



UNIVERSIDAD DE BELGRANO

Las tesis de Belgrano

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Carrera de Farmacia

Plantas tóxicas: "Duraznillo blanco" (*Solanum glaucophyllum*, Solanaceae), reconocimiento y potencial aprovechamiento industrial.

N° 527

Nicolás Espil

Tutora: Dra. Etile D. Spegazzini

Departamento de Investigaciones
Agosto 2012

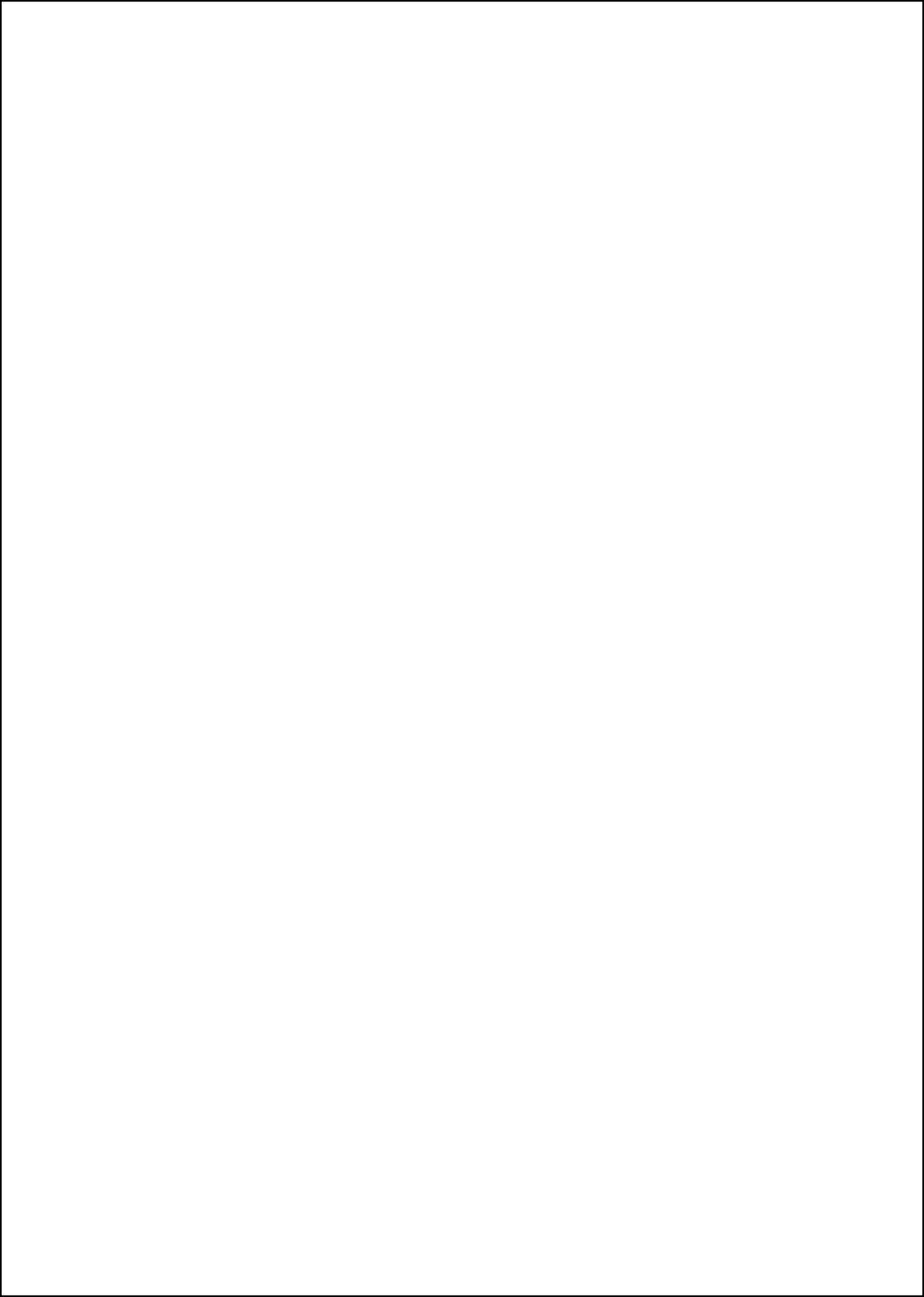
Universidad de Belgrano
Zabala 1837 (C1426DQ6)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Argentina
Tel.: 011-4788-5400 int. 2533
e-mail: invest@ub.edu.ar
url: <http://www.ub.edu.ar/investigaciones>

Solanum glaucophyllum
“Duraznillo blanco”



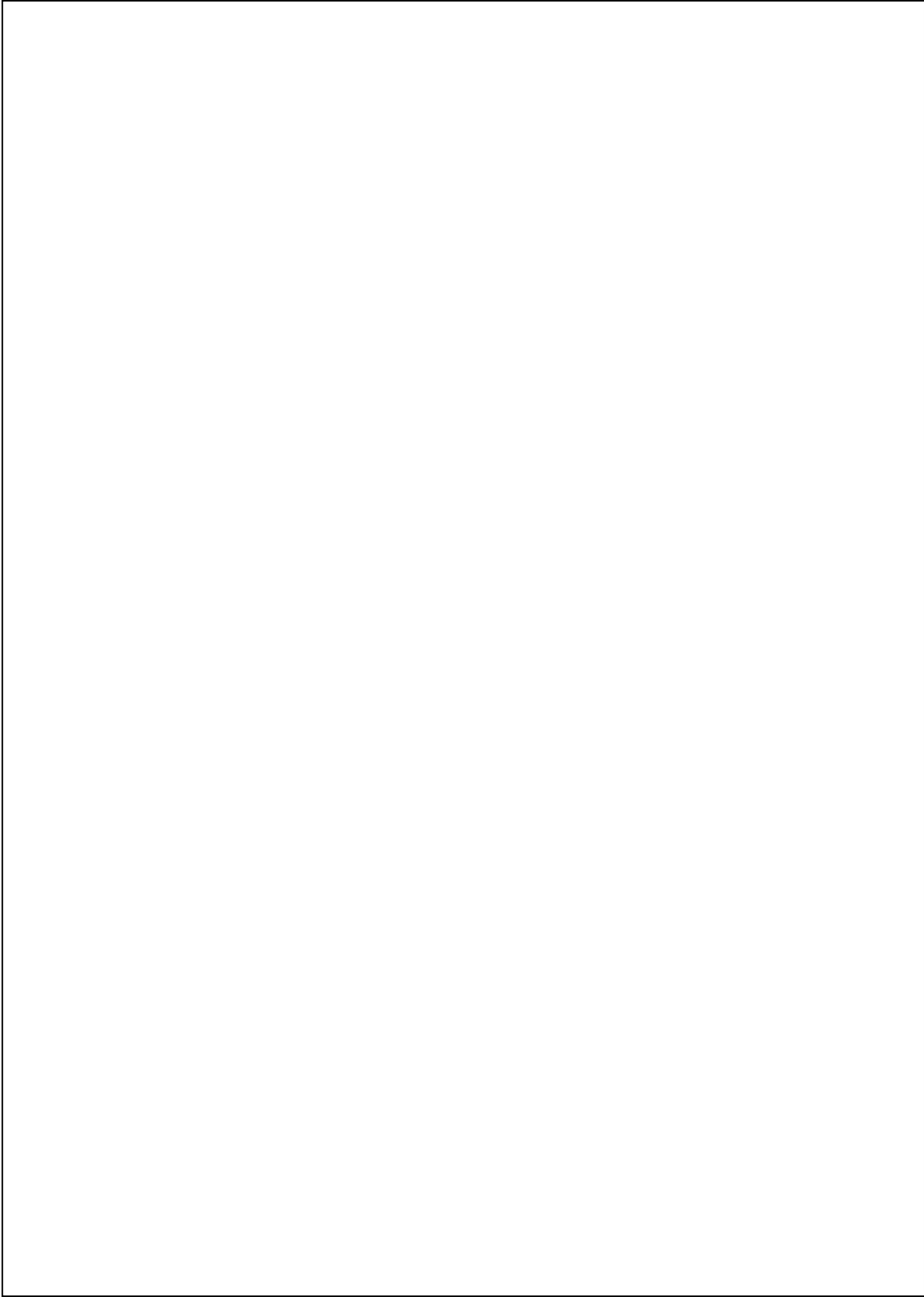
... la utopía consiste en que en una cosa, tan fácil de hacer que ya está hecha, no se haga. ¿Porqué hacer las cosas sencillas, felices y apacibles cuando se pueden hacer complicadas, trágicas y mortales ?... Enseñad a los niños a reírse de los realistas más que de las utopías.

Michel Serres



Indice

1. Introducción.....	7
2. Objetivos	8
2.1- Objetivo general	8
2.2- Objetivos específicos	8
3. Antecedentes de <i>Solanum glaucophyllum</i> Desf.....	9
3.1- Sinonimias de <i>Solanum glaucophyllum</i> Desf.	10
3.2- Características morfológicas externas	10
3.3- Ubicación geográfica.....	11
3.4- Etnofarmacología y usos tradicionales de <i>Solanum glaucophyllum</i>	12
3.5- Usos medicinales de <i>Solanum glaucophyllum</i> en la actualidad.....	12
4. Composición química de <i>Solanum glaucophyllum</i>	12
4.1- Calcitriol, principio carcinógeno de <i>Solanum glaucophyllum</i>	12
5. Calcinosis enzoótica en rumiantes (“Enteque seco”).....	13
5.1- Sintomatología	14
5.2- Patogenia	15
5.3- Respuestas biológicas	15
5.4- Toxicidad del duraznillo blanco	16
6. Fisiología Osea humana.....	19
6.1- Osteoporosis	20
6.2- La terapéutica de la osteoporosis	20
6.3- La principal función biológica del calcitriol es estimular la absorción intestinal de calcio y fosfato	21
6.4- La síntesis y metabolismo de calcitriol incluye diversos tejidos y son procesos muy regulados.....	22
6.5- Calcitriol actúa a nivel celular de una manera análoga a otras hormonas esteroides	22
6.6- El receptor del calcitriol	22
6.7- Productos génicos dependientes del calcitriol	23
6.8- Efectos del calcitriol sobre la mucosa intestinal.....	23
6.9- Fisiopatología.....	33
7. El calcitriol es uno de los componentes principales de <i>Solanum Glaucophyllum</i> , pero no el único con actividad terapéutica.....	23
8. Materiales y métodos	25
8.1- Material vegetal.....	25
8.2- Técnicas histológicas.....	25
8.3 - Análisis fitoquímico de polifenoles	26
8.3.1- Cromatografía en capa delgada (TLC)	26
8.4- Análisis fitoquímico de terpenos esteroides	26
8.4.1-Preparación de los extractos	27
8.4.2- Cromatografía en capa delgada (TLC)	27
9. Resultados	28
9.1- De Identidad Botánica.....	28
9.2- Perfiles Cromatográficos de TLC	31
9.2.1 - Polifenoles	31
9.2.2 - Vitamina D3 y metabolitos	34
10. Conclusiones	35
10.1- Características botánicas.....	35
10.2- Características fitoquímicas.....	35
11. Bibliografía	35



Agradecimientos

Mi agradecimiento a la Dra. Etile Spegazzini por su infinita sabiduría y dedicación a mi tesina.

A la Dra. Silvia Debenedetti por su ayuda y colaboración en este trabajo.

A mis compañeros y amigos Juan, Ali, Natalia y Matías por los lindos momentos que pasamos en la facultad.

Resumen

El duraznillo blanco (*Solanum glaucophyllum*) es una maleza tóxica para el ganado causante de enormes pérdidas económicas en la ganadería argentina. La ingestión de las hojas de esta planta produce el enteque seco principalmente en el ganado vacuno. El enteque seco es una enfermedad de curso crónico que hasta el día de hoy no tiene un tratamiento efectivo y su patogenia es conocida parcialmente. La principal característica de esta patología es que se trata de una hipervitaminosis D por presencia de calcitriol (1,25-dihidroxicoliciferol, metabolito calcinogénico derivados de Vitamina D). El siguiente trabajo tiene como objetivo establecer parámetros botánicos y cromatográficos de la especie autóctona *Solanum glaucophyllum* Desf. (duraznillo blanco) para su reconocimiento cuando se encuentra seco, entero, fragmentado o en polvo, en fardos de alimentación o para su detección en vaciados gástricos (rumen) en casos de intoxicación. Se establecieron parámetros micrográficos (elementos histológicos de diagnóstico) de tallo y hoja para su caracterización botánica y se desarrollaron cromatografías en capa delgada de extractos de metanol y cloruro de metileno para obtener perfiles cromatográficos característicos. Por otra parte se investigó la presencia de calcitriol o vitamina D₃, para el potencial uso de esta especie como materia prima en medicamentos.

1. Introducción

En casi todos los tipos vegetativos están presentes las plantas tóxicas por lo que los animales que pastorean en ellos están expuestos a intoxicarse y aunque esto no significa que el envenenamiento sea inminente, su presencia es un aviso de que se debe estar pendiente del riesgo. La intoxicación del ganado por plantas causa serias pérdidas económicas en la industria

ganadera. Estas pérdidas pueden ser directas al provocar muertes, disminución en el peso, abortos, largo periodo entre partos, baja eficiencia alimenticia y otros efectos sobre los animales. Estos problemas, generalmente son el resultado de errores de manejo, mala condición del agostadero, sequía y otras situaciones que obligan al ganado a consumir la vegetación que normalmente es inaceptable para ellos.

La diversidad que implica el problema de toxicidad involucra una serie de características como: diferentes tipos de plantas, diversidad en los efectos tóxicos y variación en sintomatología la mortalidad año con año, aunados a esto la dificultad para definirlo y la casi imposibilidad de controlarlo, hacen muy difícil cuantificar en términos monetarios el importe de las pérdidas económicas causadas por el envenenamiento del ganado. (Moreno et al., 2010).

Solanum glaucophyllum (sin. *S. malacoxylom*) es una especie calcinogénica responsable de la producción de la calcinosis enzoótica de los bovinos y las ovejas en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. La planta es altamente tóxica para el ganado y causa considerables pérdidas económicas en una de las zonas de producción más importantes de carne de Argentina (Okada et al., 1977). Su toxicidad es debida a la presencia de altos niveles de 1,25-dihidroxitamina D₃ (Wasserman et al., 1976).

Encontrar parámetros de identificación botánicos y fitoquímicos permiten la identificar la presencia de esta maleza tóxica cuando se la planta se encuentra seca, en fardos de alimentación o para su detección en vaciados gástricos (rumen) en casos de intoxicación. Teniendo en cuenta que el calcitriol es una forma de vitamina D que se usa para tratar y prevenir los bajos niveles de calcio en sangre, detectar la presencia de este metabolito en el duraznillo blanco permitiría generar un interés industrial en esta especie transformando una maleza tóxica en materia prima de medicamentos. (Moreno et al., 2010).

2. Objetivos

2.1- Objetivo general

Establecer parámetros histoanatómicos y fitoquímicos que permitan el reconocimiento de la droga cuando esta se encuentre entera, fragmentada o pulverizada, a fin de su identificación en los casos de intoxicación de animales.

Detectar la posible presencia de calcitriol en el duraznillo blanco que crece en Gral. Guido, Prov. de Bs. As.

2.2- Objetivos específicos

Describir las características diferenciales del corte transversal de hojas y tallos. Analizar los elementos histológicos característicos en la droga en polvo.

Establecer un perfil cromatográfico por Cromatografía en capa delgada (CCD) de los metabolitos secundarios presentes en hojas y tallos.

Detectar la presencia de Vitamina D₃ y/o calcitriol en extractos de duraznillo blanco.

3. Antecedentes de *Solanum glaucophyllum* Desf.

El género **Solanum** pertenece a la familia de las Solanaceae establecido por Carlos Linneo en 1753. La familia Solanaceae comprende 90 géneros y 2.600 especies, algunas de ellas se cultivan como alimento (papa, tomate, berenjena), otras en jardinería (petunia) y existen varias

Medicinales y/o tóxicas para el hombre y los animales por la presencia de alcaloides (belladona, estramonio, beleño, etc.). El género *Solanum* está representado en nuestra flora, nativa y adventicia, por un gran número de especies ampliamente distribuidas. Hasta el año 1979 se describieron 32 especies de Solanaceae autóctonas que contienen sustancias tóxicas. (Gallo, 1979).

Tabla 1. Agliconas y saponinas en especies nativas del género *Solanum* en Argentina. (Gallo, 1979)

Nombre Científico	Agliconas y Saponinas	Investigador
<i>Solanum abutiloides</i> (Gris.) Bitt et Lillo	Solasodina, C ₂₇ H ₄₃ N O ₂	Willaman y Hui-Lin Li, 1970
<i>Solanum acaule</i> BIT. ssp. <i>acaule</i>	Demisidina, C ₂₇ H ₄₅ N O	Willaman y Schubert, 1961
<i>Solanum schreiteri</i> Buk. <i>Solanum depexum</i> Juz.	Tomatidina, C ₂₇ H ₄₅ N O ₂	Willaman y Hui-Lin Li 1970
<i>Solanum amigdalifolium</i> Steud.	Solangustidina, C ₂₇ H ₄₃ N O ₂	Manske, 1968
<i>Solanum angustifolium</i> Lam.	Saponinas Saponinas y alcaloides	Domínguez, Molfino y Gallelli, 1918-1919 Rondina, Mendtondo y Coussio, 1970
<i>Solanum angustifidum</i> Bitter. <i>Solanum jasminifolium</i> auct. arg. nom. Sendt.	Saponinas	Domínguez, Molfino y Gallelli, 1918-1919.
<i>Solanum atriplicifolium</i> Gill. ex Meyen	Solasodina, C ₂₇ H ₄₃ N O ₂	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Nombre Científico	Agliconas y Saponinas	Investigador
<i>Solanum atropurpureum</i> Schrank	Solasodina, C ₂₇ H ₄₃ N O ₂	Willaman y Hui-Lin Li, 1970
<i>Solanum boerhaviaefolium</i> Sendt.	Solasodina, C ₂₇ H ₄₃ N O ₂	Willaman y Hui-Lin Li, 1970

Solanum bonariense L.	Solanidina, $C_{27}H_{43}NO$ Saponinas	Willaman y Schubert, 1961 Domínguez, Molfino y Gallelli, 1918-1919.
Solanum commersoni Dun Solanum rionegrinum Lechn.	Demisidina, $C_{27}H_{45}NO$ Solanidina, $C_{27}H_{43}NO$	Willaman y Schubert, 1961. Willaman y Schubert, 1961.
Solanum crispum R. et P.	Natrina, $C_{23}H_{38}NO$. Solanidina, $C_{27}H_{43}NO$	Willaman y Schubert, 1961.
Solanum curtipes Bitter	Solasodina, $C_{27}H_{43}NO_2$	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum chacoense Bitt. ssp. Chacoense Solanum boergeri Buk. Solanum garciae Juz. et Buk. Solanum gibberulosum Juz. et Buk. Solanum horovitzii Buk. Solanum laplaticum Buk. Solanum parodii Juz. et Buk. Solanum schickii Juz. et Buk. Solanum subtilius Bitt.	Solanidina, $C_{27}H_{43}NO$ Leptinidina, $C_{27}H_{43}NO_2$	Willaman y Schubert, 1961. Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum chenopodioides Lam Solanum gracile Dunal Solanum ottonis Hy- lander	Solasodina, $C_{27}H_{43}NO_2$	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum diflorum Vell. Solanum capsicastrum Link ex Schauer	Solanoscapina, $C_{27}H_{46}N_2O_2$ Saponinas	Willaman y Hui-Lin Li, 1970. Domínguez, Molfino y Gallelli, 1918-1919.
Solanum eleagnifolium Cav. var. Lepros- sum (Ortega) Dunal	Solasodina, $C_{27}H_{43}NO_2$ Alcaloides Saponinas Diogenina y un alcaloide esteroi- dal	Willaman y Hui-Lin Li, 1970. Hnatyszyn, Rondina, y Coussio, 1976. Domínguez, Molfino y Gallelli, 1918-1919. Guerreiro, Giordano, Kavka y D'Arcangelo, 1970.
Nombre Científico	Agliconas y Saponinas	Investigador
Solanum fundatum Morton Solanum saltense (Bitt.) Morton	Solanidina, $C_{27}H_{43}NO$	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum glaucophyllum Desf. Solanum glaucum Dun. Solanum malacoxylon Sendtn.	Saponinas Saponinas y alcaloides	Domínguez, Molfino, y Gallelli, 1918-1919. Kavka, Giordano y D'Arcangelo, 1970.
Solanum granuloso-leprosum Dunal Solanum verbascifolium var. Auricula- tum sensu O. Kuntze	Solasodina, $C_{27}H_{43}NO_2$	Manske, 1968.
Solanum jasminoides Paxton	Solanidina, $C_{27}H_{43}NO$ Solasodina, $C_{27}H_{43}NO_2$	Willaman y Schubert, 1961. Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum juvenale Thell. Solanum meloncillo Parodi	Saponinas, esteroidales y alcaloi- des	Kavka, Giordano y D'Arcangelo, 1970.

Solanum Kurtzianum Bitter et Wittmack Solanum macolae Buk	Solanidina, C ₂₇ H ₄₃ N O	Willaman y Schubert, 1961; Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum ligustrinum Lodd. Solanum tomatillo Remy Phil. f.	Solasodina, C ₂₇ H ₄₃ N O ₂ Tomatidina, C ₂₇ H ₄₅ N O ₂ Tomatillidina C ₂₇ H ₄₁ NO ₂ alcaloide a y c	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum maglia Schlecht.	Solanidina, C ₂₇ H ₄₃ N O	Willaman y Schubert, 1961.
Solanum microdontum ssp. gigantophyllum (Bitter) Hawker et Hjerting Solanum simplicifolius Bitter	Solanidina, C ₂₇ H ₄₃ N O Tomatidina, C ₂₇ H ₄₅ N O ₂	Manske, 1968.
Solanum nitidibaccatum Bitter	Solasodina, C ₂₇ H ₄₃ N O ₂ Tomatidina, C ₂₇ H ₄₅ N O ₂	Willaman y Hui-Lin Li, 1970. Manske, 1968.
Solanum pseudocapsicum L.	Solanidina, C ₂₇ H ₄₃ N O Solanoscapina, C ₂₇ H ₄₆ N ₂ O ₂ Saponinas	Domínguez, Molfino y Gallelli, 1918-1919.
Solanum pygmaeum Cav.	Saponinas	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum rantonnetti Carr. ex Lexcuyer	Tomatidina, C ₂₇ H ₄₅ N O ₂	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Nombre Científico	Agliconas y Saponinas	Investigador
Solanum sarachoides Sendtner	Solanidina, C ₂₇ H ₄₃ N O	Willaman y Hui-Lin Li, 1970.
Solanum sisymbriifolium Lam var. sisymbriifolium Solanum balbisii Dunal	Solanidina, C ₂₇ H ₄₃ N O	Dominguez, 1928.
Solanum stukertii Bitter var. Sturckertii Solanum sordidum auct. arg. non. Sendtner	Saponinas	Dominguez, Molfino y Gallelli, 1918-1919.
Solanum sublobatum Willd. ex Boem et Schult. Solanum nigrum auct. arg. non L. Solanum chenopodifolium Dunal	Saponinas	

La mayoría de los glicoalcaloides esteroides (solanina, tomatina, solangustidina, solasodina, etc.) presentes constituyen venenos protoplasmáticos y hemolíticos asemejándose por su actividad a las saponinas.

3.1- Sinonimias de *Solanum glaucophyllum* Desf.

El “duraznillo blanco” fue descrito por primera vez en 1829 por Desfontaines bajo la denominación de *Solanum glaucophyllum*; posteriormente se lo ha descrito con otras denominaciones:

- Solanum malacoxylon* Sendtner,
- Solanum glaucum* Dunal,
- Solanum glaucescens* Baile y
- Solanum glaucofrutescens* Larrañaga (Gimeno, 2001).

3.2- Características morfológicas externas

Planta fructífera de 1 a 1,5 metros de altura, raíz muy gruesa, tortuosa, color negruzco, tallos simples, cilíndricos, medula blanca, erecto, ramificado. Las hojas son simples, enteras, ovales, borde marcado, color verde grisáceo, el fruto es una baya azulada negruzca, con numerosas semillas. Se desarrolla en suelos poco permeables, pantanosos, arcillosos y pobres en materia orgánica.

Esta planta perenne cumple su ciclo desde la primavera hasta el otoño, y permanece inactiva, sin hojas, en invierno. Comienza su rebrote, dependiendo de la temperatura, a partir de septiembre. A partir de diciembre comienza la floración y fructifica a partir de febrero o marzo. Estas fases son muy dependientes de las condiciones ambientales, temperatura y disponibilidad de humedad. (Fig. 1)



Fig.1. Duraznillo (*Solanum glaucophyllum*) florecido. Imagen tomada en el mes de enero 2011 (General Guido: "El Cencerro").

3.3- Ubicación geográfica

Provincia de Buenos Aires, Cuenca del Salado, extendiéndose hacia el sur de la provincia de Entre Ríos y al Norte (en zonas lagunosas) de Chaco, Corrientes, Formosa y Misiones. Fundamentalmente en la zona Este y Sudeste de Buenos Aires, donde abundan suelos halomórficos e hidromórficos. También ampliamente distribuido en el Sur de Brazil, Paraguay y Uruguay. (Fig.2)



Figura 2. Mapa de la distribución geográfica del duraznillo blanco.

3.4- Etnofarmacología y usos tradicionales de *Solanum glaucophyllum*

Solanum glaucophyllum es una especie propia de Sudamérica. Los nombres vulgares con que se la conoce en Argentina son: duraznillo, duraznillo blanco, varilla, varita, duraznillo del agua, duraznillo de las lagunas, duraznillo hediondo.

Era utilizado en medicina tradicional como estimulante y antiescorbútico en el tratamiento de neuralgias y reumatismo. Actualmente ha caído en desuso, ya que en el campo que actuaban, hoy hay drogas muy efectivas:

El cocimiento de sus hojas se lo consideraba excelente para lavar heridas, pero su principal uso era en lavaje intestinales y tomado en tisanas contra la fiebre alta. También se usaba en dosis de 25 gramos por 1000 de agua.

Internamente: 3 gramos por taza de té. (Troise, 1935)

3.5- Usos medicinales de *Solanum glaucophyllum* en la actualidad

En países europeos, como España, actualmente se está indicando dentro de la medicina Homeopática y en combinación con la Alopátia (AINES), para la periartrosis calcificante del hombro, más frecuentemente del supraespinoso; artritis calcificante de la articulación coxofemoral y condrocalcinosis.

Posología:

En las calcificaciones, y según la antigüedad del cuadro patológico, se pueden utilizar diluciones bajas 6 DH o medias 9 DH, hasta la disolución de la calcificación. En el caso de la condrocalcinosis, la dilución 15 CH mejora el dolor.

...en la nefrocalcinosis se debe estudiar, aunque empíricamente puede sospecharse que será efectivo. (José L. Rovira Egido et al., 2008).

4. Composición química de *Solanum glaucophyllum*

El duraznillo blanco es una planta perteneciente a la familia de las solanaceas, por lo que como es de esperar posee alcaloides, el tóxico descrito en este vegetal es la solanina (Gimeno, 2001), un glicoalcaloide cuyo núcleo esteroidal (la aglicona) es la solanidina. En la solanina, el núcleo de solanidina está unido a una galactosa que a su vez se une a una glucosa y esta a una ramnosa. (Calvo, 2010).

Las hojas de *solanum glaucophyllum* contienen como principales principios activos a una mezcla de esteroides combinados con uno o más carbohidratos que incluyen a: vitamina D₃, 25-dihidroxitamina D₃ y principalmente 1,25-dihidroxitamina D₃ (en la forma de 1,25-dihidroxitamina D₃-1β-glucopiranosido). (Autzen, B. y Heinrich, B., 2011).

Otra publicación describe la presencia de compuestos fenólicos glicosidados: arbutina, o-metil-arbutina, isoquercetina, avicularina, rutina, kaempferol-3-o-rutinosido e isoharmetina-3-o-rutinosido. También se encontró una nueva quercetina triosa, el compuesto quercetina 3-o-[2G-6-D-apiosil] rutinósido. Muchos de estos compuestos son constituyentes de todas las plantas. (Rapaport et al., 1977).

4.1- Calcitriol, principio carcinógeno de *Solanum glaucophyllum*:

La presencia de calcitriol (glicósido de la 1,25 dihidroxi vitamina D₃), ha sido constatada en el duraznillo blanco (*Solanum glaucophyllum*). Esta sustancia tiene la propiedad de incrementar el nivel de calcio en los animales que ingieren el follaje del duraznillo blanco, depositándose en el corazón, arterias y otros tejidos blandos, originando una grave intoxicación conocida en la República Argentina con el nombre de “enteque seco” y en Brazil con el de “espichamiento”.

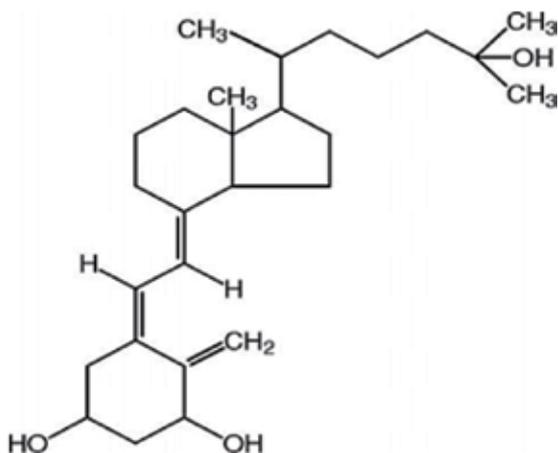


Figura 3. Calcitriol

5. Calcinosis enzoótica en rumiantes (“Enteque seco”)

La calcinosis enzoótica de los bovinos es causada por una intoxicación vegetal crónica.

Esta enfermedad, bien conocida en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, ha recibido distintas denominaciones: “enteque ossificans”, “bichoquera”, “guata-í” (del guaraní: caminar corto), “espichamento”, “espichação”, y más corrientemente “enteque seco”.

Cuadros similares se han descrito en diversas regiones del mundo afectando a animales en pastoreo. En todos ellos, la deposición de sales de calcio en los tejidos blandos, se acompaña de un severo deterioro físico con depreciación de las reses. Hasta el momento se han encontrado seis plantas que inducen calcinosis sistémica por intoxicación crónica:

Solanum glaucophyllum Desf. (Solanaceae, figura 4),

Cestrum diurnum L. (Solanaceae, figura 5),

Solanum torvum Sw. (Solanaceae, figura 6),

Trisetum flavescens L. (Poaceae, figura 7),

Nierembergia veitchii H. (Solanaceae, figura 8) y

Stenotaphrum secundatum W. (Panicoideae, figura 9). (Gimeno, 2001).



Figura 4. *Solanum glaucophyllum*.



Figura 5. *Cestrum diurnum*.
(Fuente: www.aurobindo.ru)



Figura 6. *Solanum torvum*.
(Fuente: www.b-and-t-world-seeds.com)



Figura 7. *Trisetum flavescens*.
(Fuente: www.wildseed.co.uk)



Figura 8. *Nierembergia veitchii*.
(Fuente: www.jardins-interieururs.com)



Figura 9. *Stenotaphrum secundatum*.
(Fuente: www.vet.uga.edu)

El *Solanum glaucophyllum* es muy poco palatable y los animales usualmente no lo ingieren.

No obstante, pueden hacerlo en periodos de sequía (Collier, W.A., 1927), especialmente brotes tiernos u hojas caídas y mezcladas con la pastura (Carrillo, B.J. y Worker N.A., 1967). Tan sólo 12 gramos semanales de hojas de duraznillo, alcanzan para producir la enfermedad en una vaca de 300 Kg en 4 meses (Crenovich et al., 1994). Un vacuno que ingiera 50 hojas por día se presentará clínicamente enfermo en 8 a 10 semanas (Okada, E.A., Carrillo, B.J. y Tilley, M., 1977).

La concentración de vitamina D es muy variable en los distintos vegetales calcinogénicos en los que se la ha estimado; en el *Solanum glaucophyllum* equivale a 130.000 (UI Kg/MS (MS: materia seca), en el *Cestrum diurnum* a 3.000 UI Kg/MS, en el *Stenotaphrum secundatum* a 1.460 UI Kg/MS y en el *Trisetum flavescens* a 600 a 800 UI Kg/MS (Arnold, R.M. y Fincham, I.H., 1997).

5.1- Sintomatología

La enfermedad, de curso crónico, comienza con dificultades en la locomoción (miembros anteriores) y aparece por lo general en animales de más de dos años de edad, en los meses de verano y otoño. Los vacunos clínicamente afectados muestran anorexia, pérdida de peso, hirsutismo, envaramiento y xifosis. Si el proceso avanza, se observa emaciación, vientre sumido, con acentuación del envaramiento y de la xifosis. Los animales muestran una postura característica, flexionan el carpo y apoyan los miembros en el extremo de las pezuñas, descargando alternativamente uno y otro de los miembros anteriores (Fig. 9). Se mueven a desgano, con pasos cortos y rígidos. Los enfermos presentan disnea y taquicardia que aumenta al mover los animales, pudiendo caer al suelo con síntomas de insuficiencia cardíaca y pulmonar. Al levantarse lo hacen con dificultad y permanecen sobre las articulaciones carpianas antes de levantarse por completo. (Gimeno, 2001).



Figura 10. Vaca con dificultades para levantarse (apoyada sobre las articulaciones carpianas). (www.cuencarural.com).

La calcinosis enzoótica afecta a vacunos de todas las razas y es más frecuente en vacas de cría, debido a que constituyen la población predominante en las zonas "entecadoras".

Ocasionalmente se la encuentra en toros, novillos y vaquillonas y, más raramente, en ovinos, equinos y caprinos (Carrillo, B.J. y Worker, N.A., 1967 y Gimeno, E.J., 1977).

Los animales a pastoreo en áreas problema presentan hipercalcemia e hiperfosfatemia.

Utilizando como índice el producto de calcio y fósforo inorgánico ($Ca \times P$), se considera a 60 como el umbral aproximado de normalidad. Los animales que pastan en potreros "entecadores" presentan valores de $Ca \times P$ mayores de 60, si estos animales son transferidos a potreros donde no se presenta el problema los valores bajan de 60 (Carrillo, B.J. y Worker, N.A., 1967).

5.2- Patogenia

Después del reconocimiento del *Solanum glaucophyllum* como agente causal del "enteque seco", se realizaron una multitud de estudios tendientes a probar sus efectos biológicos (Döbereiner, J., 1971; Gimeno, E.J., 1977 y Puche, R.C. y Bingley, J.B., 1995). La semejanza del "enteque seco" y de la intoxicación experimental con *Solanum glaucophyllum* con la hipervitaminosis D, permitió postular que tendrían una patogenia similar (Carrillo, B.J., 1971 y Carrillo, B.J. y Worker, N.A., 1967).

Para explicar la fisiopatología de la calcinosis enzoótica, es necesario recordar brevemente el **metabolismo de la vitamina D**. El colecalciferol (vitamina D_3) aportado por la dieta u originado en la piel por irradiación ultravioleta, es convertido en el organismo en metabolitos de gran actividad biológica. La primera transformación ocurre en el hígado, donde la vitamina D es convertida en $25\text{-OH-}D_3$ y luego es hidroxilada por el sistema 1α -hidroxilasa en el riñón, para producir $1,25\text{-dihidroxitamina } D_3 [1,25(\text{OH})_2D_3]$. El $1,25(\text{OH})_2D_3$, también llamado calcitriol, es el metabolito más activo que se conoce entre los derivados de la vitamina D_3 ; su formación está directamente relacionada con las necesidades de calcio del animal. Cuando el organismo recibe una dieta pobre en calcio, aumenta la cantidad de $1,25(\text{OH})_2D_3$ producido en el riñón el que va a determinar una mayor absorción intestinal de calcio. Lo contrario ocurre si la alimentación es rica en calcio y fósforo; la producción de calcitriol disminuye. Existe, en consecuencia, un verdadero sistema de retroalimentación que regula la producción endógena de $1,25(\text{OH})_2D_3$ (Dusso, A.S., y Brown, A.J., 1998 y Walters, M.R., 1992).

Si el animal recibe un aporte exógeno de $1,25(\text{OH})_2D_3$ ese mecanismo de regulación es anulado y la absorción de calcio no va a depender de las necesidades de calcio del animal.

En los últimos años se han identificado receptores de vitamina D (VDR) en múltiples tejidos y órganos y se ha comprobado que la vitamina D es mucho más que una "vitamina del metabolismo mineral". Los "nuevos efectos" de la vitamina D, que se comenzaron a definir en la década del 80, ya involucran a procesos esenciales y tan variados como la diferenciación y la proliferación celular, la modulación del sistema inmune, el control de la secreción de hormonas y la función reproductiva. El $1,25(\text{OH})_2D_3$ ejerce sus principales actividades biológicas mediante receptores específicos (VDR) que se comportan como otros receptores de hormonas esteroideas; es por ello que muchos autores se refieren al "sistema endocrino vitamina D". Los VDR activados por el calcitriol interactúan con secuencias específicas de DNA, que constituyen los genes que responden a la vitamina D (VDREs: elementos que responden a los receptores de vitamina D). La expresión de esos genes, aún no totalmente identificados, se traduce en múltiples funciones celulares en tejidos y órganos variados (Carlberg, C., 2000; Dusso, A.S. y Brown, A.J., 1998 y Freedman, L.P. et al., 2000).

El efecto de la activación de los VDRs en los tejidos-blancos clásicos (intestino, riñón, hueso y glándula paratiroides) conduce a elevar los niveles de Ca^{2+} y contribuir a la homeostasis del Ca^{2+} . Esas acciones están mediadas por la inducción de proteínas afines al calcio (CaBPs – "calcium binding proteins") (Dusso, A.S. y Brown, A.J., 1998 y Walters, M.R., 1992).

Los VDR están presentes en numerosos órganos no relacionados con el metabolismo mineral: piel, músculo, páncreas, órganos reproductores, sistema nervioso, tejidos hemo- y linfopoyético, entre otros. El principal efecto del calcitriol reside en la capacidad para estimular la absorción de calcio y fósforo en el intestino, no obstante, también controla la expresión de múltiples genes que participan en una plétora de acciones biológicas. Los VDR, convenientemente activados, pueden aumentar o disminuir la transcripción de dichos genes y, en consecuencia, aumentar o disminuir la secreción de los productos codificados por dichos genes (Dusso, A.S. y Brown, A.J., 1998 y Walters, M.R., 1992).

5.3- Respuestas biológicas

Los efectos mediados por transcripción génica no pueden expresarse tan rápidamente. Esos efectos rápidos "no -genómicos" involucran entre otros, el transporte de calcio y fósforo a través la membrana celular, cambios en el guanosin-monofosfato cíclico y activación de la proteína kinasa C. Esos efectos

rápidos parecerían estar mediados por un receptor de la superficie celular distinto del VDR (Dusso, A.S. y Brown, A.J., 1998).

La degradación catabólica del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ se produce en el interior de todas las células blanco, principalmente por oxidación de la cadena lateral de la molécula. Esa reacción es catalizada por la enzima vitamina D-24-hidroxilasa. La hidroxilación a nivel del carbono 24 es seguida por hidroxilaciones en la cadena lateral hasta llegar a la formación de ácido calcitriico, una molécula inerte que se elimina con la bilis (Dusso, A.S. y Brown, A.J., 1998).

La relación de los metabolitos de la vitamina D, especialmente del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, con el crecimiento y la diferenciación celular ha sido estudiada extensamente en condiciones fisiológicas y patológicas, como por ejemplo en enfermedades óseas, psoriasis, cáncer y otras (Dusso, A.S. y Brown, A.J., 1998; Hausler, M.R. et al., 1976 y Walters, M.R., 1992).

Como la hipervitaminosis D en la especie humana es muy infrecuente, no se han analizado dichos aspectos en intoxicaciones por dicha vitamina.

En lo que concierne a modificaciones en los mencionados procesos celulares básicos en hipervitaminosis D de origen vegetal en animales, existen pocos antecedentes (Barros, S.S. y Gimeno, E.J., 2000; Barros, S.S. et al., 1981; Gimeno, E.J. et al., 2000 y Gomar, M.S. et al., 2000).

5.4- Toxicidad del duraznillo blanco

Las hojas de *Solanum glaucophyllum* contienen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ combinado con uno o más carbohidratos; en realidad, contienen una mezcla de esteroides que incluyen además a la vitamina D_3 y también al $1,25(\text{OH})\text{D}_3$. Presentan igualmente hidroxilasas similares a las que existen en los vertebrados que catalizan la transformación de la vitamina D_3 (Puche, R.C. y Bingley, J.B., 1995, Skliar, M.I. et al., 1992 y Weissenberg, M., 1989). La significación biológica de la vitamina D_3 y sus derivados en las plantas no es aún clara. Se ha sugerido que tendría importancia en el transporte de calcio y de fósforo en células vegetales (Weissenberg, M., 1989). Algunos estudios han demostrado también su participación en la formación de raíces (Vega, M.A. et al., 1985).

Una vez ingerido por los bovinos se produce la hidrólisis enzimática del complejo

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glucósido a nivel ruminal. La acción de la flora ruminal es compleja y ha sido poco estudiada; además de los tres metabolitos mencionados anteriormente, se detecta también $1,24,25$ -trihidroxi-vitamina D_3 (Skliar, M.I. et al., 1992). Los compuestos hidroxilados en posición 24 se consideran productos del catabolismo del calcitriol (Dusso, A.S. y Brown, A.J., 1998 y Walters, M.R., 1992).

Como el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tiene una actividad biológica muy superior que los otros metabolitos (aproximadamente mil mayor), se asume que es el principio responsable de la toxicidad del *Solanum glaucophyllum*.

El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ liberado va a actuar directamente en las células intestinales aumentando la absorción de Ca y P (Boland, A.R. et al., 1978; Gimeno, E.J., 1977 y Puche, R.C. y Bingley, J.B., 1995). El referido esteroide es también absorbido en el intestino, y la concentración plasmática de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aparece "dramáticamente" incrementada después de la ingestión de "duraznillo blanco" (Dallorso, M.E. et al., 1994 y Hausler, M.R., 1976). Ese gran aporte de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ exógeno, determina un incremento persistente de Ca y P en plasma y, de esa manera, la regulación, que normalmente realiza el sistema 1α -hidroxilasa renal, se torna ineficaz.

La hipercalcemia y la gran concentración plasmática de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ suprimen la secreción de hormona paratiroidea (PTH). En animales intoxicados con "duraznillo blanco" las paratiroides muestran evidencias de atrofia, en estudios con microscopía óptica y electrónica (Carrillo, B.J., 1971 y Morris, K.L.M., 1978). Las células C de la tiroides aumentan la secreción de calcitonina en un intento por disminuir la calcemia. Esa hormona polipeptídica incrementa la captación de Ca en el hueso y la formación de osteoide, inhibiendo igualmente la resorción ósea; esto se refleja en una reducida excreción urinaria de hidroxiprolina. En consecuencia, resulta aumentada la densidad del tejido óseo, cambio que recibe la denominación de osteopetrosis.

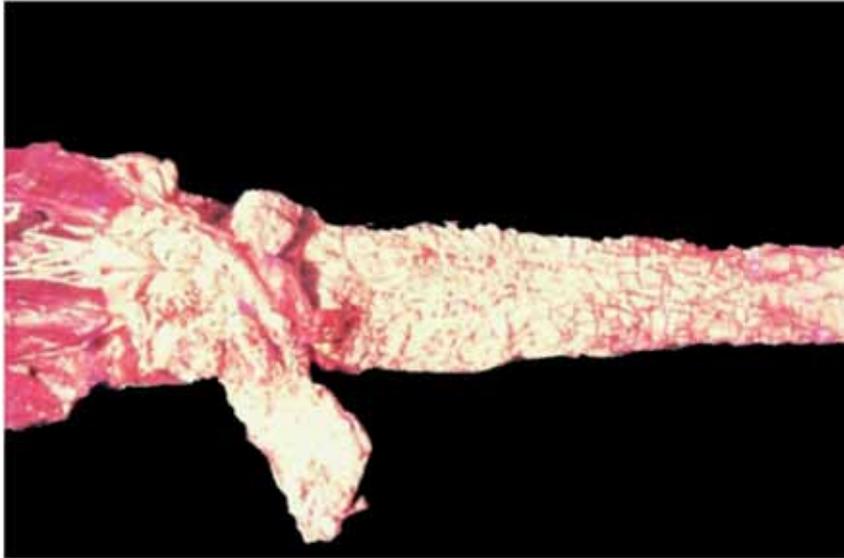


Figura 11. Calcificación de arteria aorta y ventrículo izquierdo (Gimeno, 2001).

La mayor demanda funcional se refleja en proliferación de las células C (Carrillo, B.J., 1971 y Morris, K.L.M., 1978).

Los vacunos "entecados" presentan anemia debido a la depresión de la médula ósea que origina la ingestión de "duraznillo blanco", con un significativo descenso en el porcentaje de células en mitosis. La médula ósea se torna incapaz de reponer los eritrocitos al ritmo normal (Orsatti, M.B. et al., 1982 y Puche, R.C. y Bingley, J.B. 1995).

Los eritrocitos de ratas tratadas con $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ durante 10 días incrementan su concentración intracelular de P a expensas de ATP y 2,3-difosfoglicerato (DPG). El DPG regula la afinidad del oxígeno por la hemoglobina en los glóbulos rojos. La disminución de DPG induce hipoxia tisular, lo cual se refleja en un aumento de la relación plasmática de lactato/piruvato y una concentración triple de lo normal de eritropoyetina (Orsatti, M.B. et al., 1982).

El *Solanum glaucophyllum* afecta el movimiento de iones hacia el interior y exterior de las mitocondrias y activa una ATPasa mitocondrial (Puche, R.C. y Locatto, M.E., 1974), lo que indudablemente contribuye a la hipoxia originada por la anemia y por la menor concentración de DPG.

Las alteraciones bioquímicas, anteriormente citadas, son seguidas por cambios morfológicos, principalmente calcificaciones intramitocondriales y acúmulo de proteoglicanos en la sustancia fundamental intercelular, fibras elásticas y membranas basales de aquellos tejidos con tendencia a calcificarse (corazón, arterias de gran calibre, pulmón, tendones, riñones, etc.). El Ca^{2+} soluble se concentra progresivamente en los proteoglicanos y luego empiezan a presentarse pequeñas concreciones de sales de calcio (Regal, D.S., 1983). Esos pequeños cristales pueden visualizarse con el microscopio óptico a lo largo de las fibras elásticas luego de suministrar *Solanum glaucophyllum* a animales de laboratorio durante una semana (Gimeno, E.J., 1977 y Regal, D.S., 1983). Figura 12.

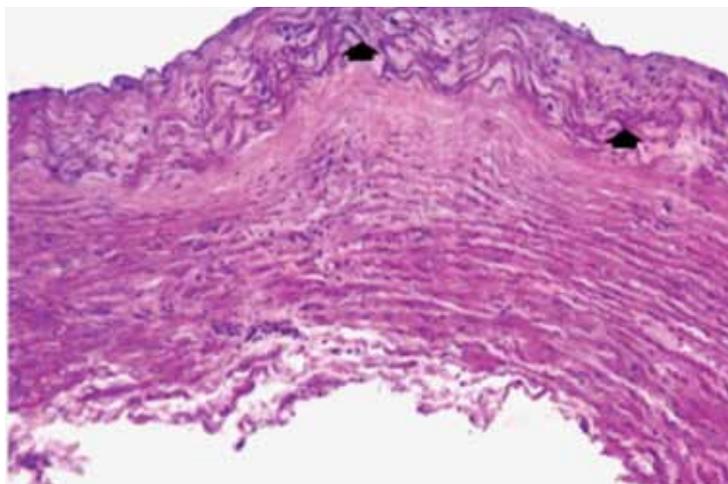


Figura 12. Calcificación en arteria aorta (fibras elásticas, coloración de hematoxilina) (Gimeno, 2001).

Resultados recientes indican un proceso de diferenciación celular con secreción de una matriz extracelular que provee un ambiente bioquímico facilitador de la deposición de sales de calcio de una forma similar a la que ocurre en el hueso. Se postula que la misma obedece a efectos específicos del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sobre la diferenciación celular en las células blanco de los tejidos blandos que se van a calcificar. La expresión "in situ" de osteopontina parecería ser de particular importancia en la génesis de las calcificaciones ya que esa proteína se une muy fuertemente a hidroxapatita y, por lo tanto, tiene un rol importante en el proceso de calcificación (Ikeda, T. et al., 1993). Los estudios ultraestructurales indican igualmente la diferenciación de células contráctiles en células de tipo secretorio (Barros, S.S. y Gimeno, E.J., 2000, Barros, S.S. et al., 1981 y Gomar, M.S. et al., 2000) que si evolucionan durante un tipo prolongado se diferencian en células condroides y osteoides; este cambio de metaplasia conjuntiva ha sido descrito repetidamente (Döbereiner, J., et al 1971, Eckell, O.A. et al., 1960 y Morris, K.L.M., 1978). La presencia de células gigantes multinucleadas podría obedecer igualmente a la acción directa del calcitriol. El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estimula la diferenciación de monocitos y la formación de osteoclastos (de diferenciación celular es también estimulado a nivel cutáneo (Gimeno, E.J. et al., 1992; Massone, A.R. y Portiansky, E.L., 2000). Estos efectos, se supone, serían inducidos por transcripción génica inducida por el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

La disminución de colágeno tipo I en la capa media aórtica (Portiansky, E.L. et al., 2000) se ha interpretado como un efecto específico del calcitriol ya que reduce la transcripción del gen respectivo (Dusso, A.S. y Brown. A.J., 1998).

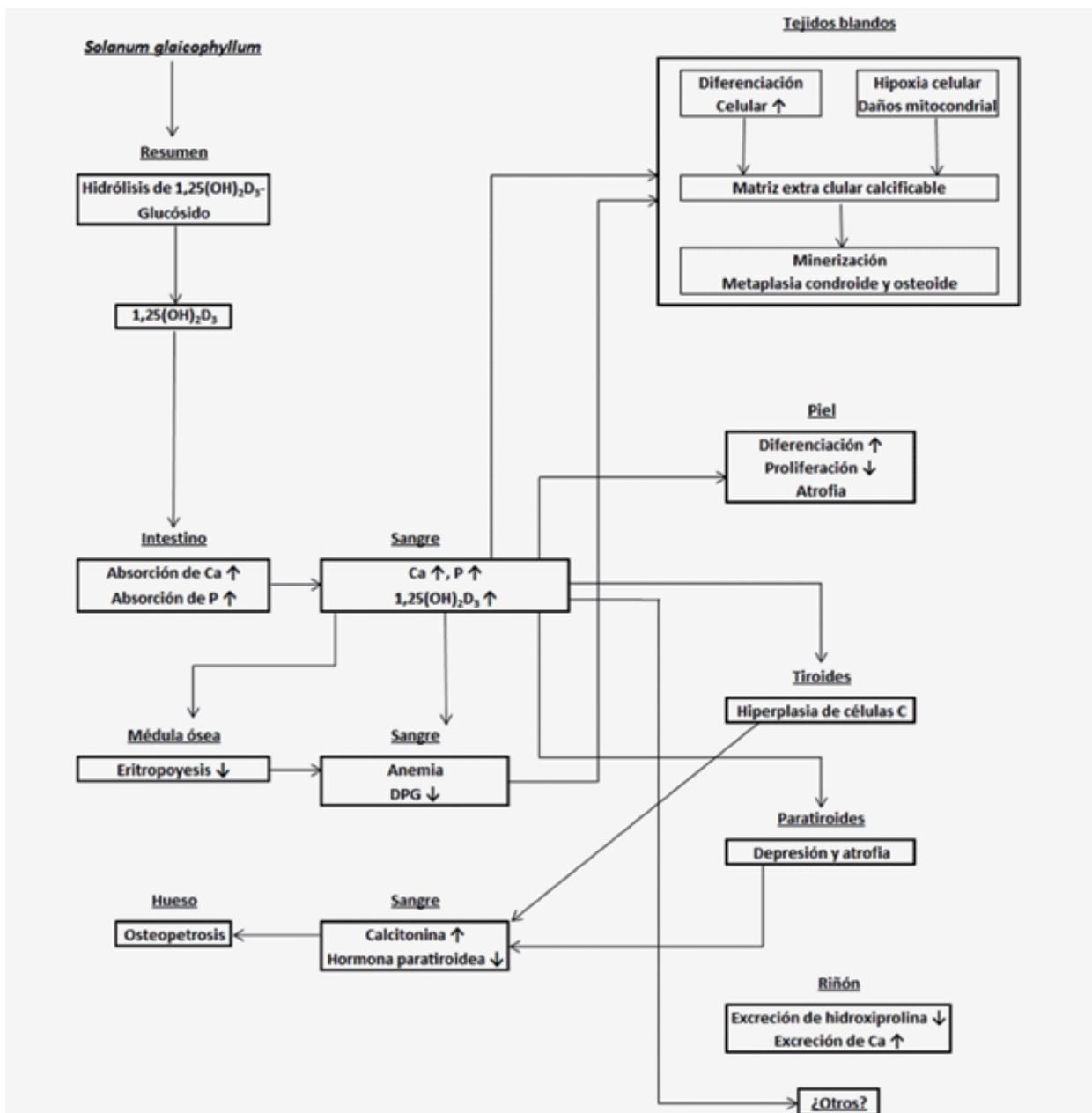




Figura 14. Duraznillo (*Solanum glaucophyllum*). Imagen tomada en el mes de enero 2011. (General Guido: "E I Cencerro").

6. Fisiología Osea humana

Una vez alcanzada la masa ósea máxima, lo cual ocurre hacia el fin de la tercera década de la vida, el mantenimiento de la misma depende de un complejo y equilibrado proceso de remodelación ósea, con sus dos fases fundamentales: la resorción (que dura cerca de 3 semanas por sitio), comandada por los osteoclastos, y la formación (fabricación y depósito de matriz extracelular ósea), llevada a cabo por los osteoblastos y que tarda 3 a 4 meses. (Guyton, 1989).

Todo esto se halla bajo la dirección de un sistema de señales hormonales a su vez modulada por factores locales óseos que mantienen un equilibrio.

La **PTH (Parathormona)** se secreta por las glándulas paratiroideas y es importante para el mantenimiento de la calcemia. Esta hormona aumenta la resorción ósea, aumenta la reabsorción tubular renal de calcio, y aumenta la absorción intestinal de calcio estimulando la síntesis renal de 1,25-vitamina D; por lo tanto aumenta la calcemia. Su secreción aumenta cuando desciende la calcemia y disminuye cuando esta aumenta.

La **Vitamina D** es producida principalmente por la piel. Esta transformación se produce principalmente en el riñón por estímulo de la PTH. Produce un aumento en la absorción intestinal de calcio, manteniendo los niveles normales de calcemia contribuyendo a la normal mineralización del hueso.

La **Calcitonina** es una hormona secretada por las células C de la glándula tiroides. Su secreción se estimula por varios factores, entre ellos el aumento de la calcemia. Sus efectos predominantes son el descenso de la resorción ósea y de la reabsorción tubular renal de calcio.

Otras hormonas actúan sobre el metabolismo del calcio y del hueso, como los esteroides gonadales y suprarrenales, la tiroxina, la insulina y la hormona del crecimiento, aunque, a diferencia de las hormonas calciotropas, su secreción no depende principalmente de la concentración extracelular de calcio.

La concentración de las hormonas que regulan el metabolismo del calcio determina la dirección del recambio óseo, pero los factores locales modulan el efecto final y, a su vez, modifican la concentración de las hormonas y la respuesta biológica a nivel de los osteoblastos y los osteoclastos (Murria, R.K. et al., 1994).

6.1- Osteoporosis

Es el adelgazamiento del tejido óseo y la pérdida de la densidad en los huesos con el tiempo.

El calcio y el fósforo son dos minerales esenciales para la formación normal del hueso. A lo largo de la juventud, el cuerpo utiliza estos minerales para producir huesos. Si uno no obtiene suficiente calcio o si el cuerpo no absorbe suficiente calcio de la dieta, se puede afectar la formación del hueso y los tejidos óseos.

Las causas principales de la osteoporosis son la disminución de los niveles de estrógenos en las mujeres en el momento de la menopausia y la disminución de la testosterona en los hombres. Las mujeres mayores de 50 años y los hombres mayores de 70 tienen un riesgo más alto de sufrir osteoporosis. Otras causas abarcan:

- Artritis reumatoidea crónica, nefropatía crónica, trastornos alimentarios.
 - Tomar corticosteroides (prednisona, metilprednisolona) todos los días por más de tres meses o tomar algunos anticonvulsivos.
 - Hiperparatiroidismo.
 - Deficiencia de vitamina D.
 - Las mujeres blancas, en especial aquéllas con un antecedente familiar de osteoporosis, tienen un riesgo superior al promedio de padecer la enfermedad. Otros factores de riesgo abarcan:
 - Ausencia de períodos menstruales (amenorrea) por mucho tiempo.
 - Tomar una gran cantidad de alcohol.
 - Antecedentes familiares de osteoporosis.
 - Antecedentes de tratamiento con hormonas para el cáncer de mama o de próstata.
 - Bajo peso corporal.
 - Tabaquismo.
 - Muy poco calcio en la dieta.
- (Medline plus, 2010).

6.2- La terapéutica de la osteoporosis

Se pueden describir los principales tratamientos de la osteoporosis.

- **Estrógenos:** *Retrasan la desmineralización. El mecanismo no se conoce bien, pero se cree que es una reacción directa sobre el hueso porque se han descubierto receptores de estrógenos en los osteoblastos.*
- La terapia de reemplazamiento estrogénico es el más experimentado de los tratamientos de la osteoporosis, y el que tiene mayores pruebas de eficacia. Produce una diferencia significativa de la densidad ósea en favor de los pacientes tratados y la evidencia indica que ello se traduce en una disminución del 35-60% en la incidencia de fracturas en tratamientos de más de cinco años de duración. Los mejores resultados se obtienen en la prevención de las fracturas espinales, en tanto que las fracturas de las localizaciones óseas extraespinales son algo menos protegidas por el tratamiento estrogénico.

Se recomienda comenzar lo antes posible en la postmenopausia porque la pérdida de masa ósea es acelerada en los primeros años, pero hay evidencia reciente que muestra acción protectora de los estrógenos en casos de osteoporosis ya establecida y con fractura previa. De todas formas la introducción de alternativas eficaces ha conducido a replantear la vieja cuestión del riesgo de cáncer de mama con los tratamientos prolongados. Hay una tendencia a limitar la duración de la terapia de sustitución estrogénica a 10-12 años, y usar después otros medicamentos, caso necesario.

Los estrógenos por vía transdérmica (un parche de 50 o de 100 mcg al día) tienen el mismo efecto que por vía oral en la osteoporosis. Las ventajas e inconvenientes figuran en el cuadro I, pero hay que resaltar que no hay que contar con el efecto protector cardiovascular, que es un beneficio añadido de la terapia vía oral.

Uno de los problemas potencialmente importantes del uso prolongado de estrógenos es su capacidad de estimular la proliferación del endometrio, incrementando el riesgo de cáncer de endometrio. Dado que los **progestágenos** son capaces de limitar esta condición, se recomienda su asociación en las mujeres con útero intacto.

- **Moduladores de receptores estrogénicos:** *Retrasan la desmineralización. Son fármacos que interaccionan con el receptor estrogénico, desarrollando efectos agonistas o antagonistas, dependiendo del tejido y del contexto fisiológico. Producen efectos estrogénicos típicos sobre el hueso, reduciendo la resorción y el ciclo metabólico total del hueso. En los tejidos mamario y uterino, sin embargo, producen efectos antiestrogénicos, aunque esto se traduce en un efecto uterotrófico de escasa entidad.*

El primero de este tipo de fármacos en ser comercializado ha sido **raloxifeno**.

- **Calcitonina:** *Retrasa la desmineralización. Es una hormona que interviene en la regulación natural del metabolismo óseo del calcio y su acción principal es la inhibición de los osteoclastos.*
La eficacia de la calcitonina en la conservación de la masa ósea es parecida a la de los estrógenos y los efectos indeseables a largo plazo son menores. El hecho de que alivia el dolor de origen óseo es una ventaja adicional para algunos pacientes.
- **Calcio:** *Retrasa la desmineralización, probablemente porque el aumento de la calcemia inhibe la secreción de hormona paratiroidea.*
La opinión sobre la utilidad de los suplementos de calcio está cambiando. Del escepticismo de hace pocos años (fundamentado en que numerosos ensayos no terminaban de demostrar la eficacia protectora) se ha pasado a una actitud favorable basada en nueva evidencia clínica y en la reinterpretación de los resultados anteriores.
- **Bisfosfonatos:** *Retrasan la desmineralización. A las dosis usadas en osteoporosis no se incorporan a la estructura ósea, sino que se absorben sobre los cristales de hidroxapatita y una vez allí inhiben la acción de los osteoclastos.*
Los bisfosfonatos se usaron inicialmente en la enfermedad de Paget, pero los buenos resultados en osteoporosis les han convertido en otro de los tratamientos básicos.
- El **alendronato** es un bisfosfonato de introducción más reciente y seleccionado específicamente por tener propiedades adecuadas para el tratamiento de la osteoporosis. Además, el alendronato ha demostrado una clara eficacia en el tratamiento y prevención de la osteoporosis inducida por glucocorticoides.
Un inconveniente general de los bisfosfonatos es que se absorben mal. Procurar administrarlos en ayunas. El alendronato debe tomarse de pie y con un vaso de agua para prevenir posibles casos de esofagitis.
- **Fluoruro sódico:** *Induce el aumento de densidad mineral ósea, posiblemente por estímulo de osteoblastos, no puede recomendarse su uso generalizado.*

Característica	Estrógenos	Moduladores estrogénicos	Calcitonina	Bisfosfonatos
Aumento de la densidad mineral ósea	+	+	+	++
Efectos positivos en los lípidos sanguíneos	++	+	-	-
Mejoría de los síntomas vasomotores	+	-	-	-
Actividad analgésica	-	-	+	-
Estimulación endometrial	+	-	-	-
Riesgo de cáncer de mama	+	±	-	-

Cuadro 2. Características comparadas de los fármacos utilizados en la prevención tratamiento de la osteoporosis. (Murria, R.K. et al., 1994).

6.3- La principal función biológica del calcitriol es estimular la absorción intestinal de calcio y fosfato

El calcitriol es la única hormona que puede promover esta translocación del calcio contra el gradiente de concentración que existe a través de la membrana celular intestinal. Puesto que la producción de calcitriol está estrechamente regulada, existe un mecanismo fino para controlar el Ca^{2+} del líquido extracelular (LEC) a pesar de las notables fluctuaciones del contenido de calcio en los alimentos. Esto asegura una concentración apropiada de calcio y fosfato para ser depositados, como cristales de hidroxapatita sobre fibrillas de colágeno en el hueso. En la deficiencia de vitamina D (deficiencia de calcitriol), la formación de hueso nuevo es lenta y también está alterada su remodelación. Estos procesos tienen a la hormona PTH como regulador primario que actúa sobre las células óseas, pero también se requieren cantidades pequeñas de calcitriol. Además, este puede aumentar las acciones de la PTH sobre la resorción renal del calcio. (Murria, R.K. et al., 1994).

6.4- La síntesis y metabolismo de calcitriol incluye diversos tejidos y son procesos muy regulados

Biosíntesis: El calcitriol es una hormona en todos los aspectos. Es producida por una serie compleja de reacciones enzimáticas que abarca el transporte plasmático de las moléculas precursoras a cierto número de tejidos diferentes. La molécula activa, el calcitriol, es transportada a otros órganos donde activa los procesos biológicos de manera semejante a la empleada por las hormonas esteroides.

Piel: En los alimentos hay cantidades pequeñas de vitamina D (aceite de hígado de pescado, yema de huevo), pero la mayor parte de esta vitamina, disponible para la síntesis de calcitriol, se produce en la capa de Malpighi de la epidermis a partir del 7-deshidrocolesterol en una reacción fotolítica no enzimática, mediada por la luz ultravioleta. El grado de esta conversión se relaciona directamente con la intensidad de la exposición e inversamente con el grado de pigmentación de la piel. Con el avance de la edad hay una pérdida de 7-deshidrocolesterol en la epidermis que puede tener relación con el equilibrio negativo de calcio en la vejez.

Hígado: Una proteína transportadora específica denominada proteína fijadora D se une a la vitamina D₃ y a sus metabolitos y los transporta desde la piel o el intestino hasta hígado donde experimentan la 25-hidroxilación, la primera reacción obligatoria en la producción de calcitriol. La 25-hidroxilación se realiza en el retículo endoplásmico en una reacción que requiere magnesio, NADPH, oxígeno molecular y un factor citoplasmático no caracterizado aun. Intervienen dos enzimas, una citocromo P-450 reductasa dependiente del NADPH y un citocromo P-450. Esta reacción no es regulada y también ocurre con baja eficiencia en el riñón y el intestino. La 25OH-D₃ entra a la circulación, donde es la forma principal de vitamina D que se identifica en el plasma y es transportada a los riñones por la proteína fijadora D.

Riñón: La 25OH-D₃ es un agonista débil y debe ser modificado por hidroxilación en la posición del C1 para su actividad biológica completa. Esto ocurre en las mitocondrias del túbulo contorneado proximal del riñón en una reacción compleja con la monooxigenasa con tres componentes, que requiere NADPH, Mg²⁺, oxígeno molecular y por lo menos tres enzimas: (1) una flavoproteína, la ferredoxinreductasa renal; (2) una proteína con hierro y azufre, la ferredoxina renal, y (3) el citocromo P-450. Este sistema produce al 1,25(OH)₂-D₃, que es el metabolito natural más potente de la vitamina D.

Otros tejidos: La placenta tiene una 1 alfa-hidroxilasa que al parecer es una fuente extrarenal importante de calcitriol. En varios otros tejidos hay actividad enzimática, incluyendo el hueso; sin embargo, su significado fisiológico parece ser mínimo, puesto que en los animales nefrectomizados no preñados se encuentra muy poco calcitriol.

Regulación del metabolismo y la síntesis: Al igual que otras hormonas esteroides, el calcitriol está sujeto a regulación estrecha por retroacción. Las dietas escasas en calcio y la hipocalcemia en los animales intactos, inducen un incremento notable de la actividad de la 1 alfa-hidroxilasa. Este efecto requiere PTH, que también es liberada en respuesta a la hipocalcemia. La acción de la PTH es todavía inexplicable, pero estimula la actividad de la 1 alfa-hidroxilasa tanto en los animales deficientes en vitamina D como en los tratados con ella. Las dietas escasas en fósforo y la hipofosfatemia también inducen la actividad de la 1 alfa-hidroxilasa, pero al parecer este es un estímulo más débil que el proporcionado por la hipocalcemia.

El calcitriol es un regulador importante de su propia producción. Las concentraciones altas de calcio inhiben a la 1 alfa-hidroxilasa renal y estimulan la formación de 24,25(OH)-D₃, subproducto aparentemente inactivo. Los estrógenos, progestinas y andrógenos causan un aumento de la 1 alfa-hidroxilasa. El papel que estas hormonas desempeñan en los mamíferos, junto con la insulina, la hormona de crecimiento y la prolactina, es incierto.

La molécula esteroide básica puede ser modificada por vías metabólicas alternas, es decir, por hidroxilación en las posiciones 1, 23, 24, 25 y 26 y por la formación de cierto número de lactonas. Se han identificado más de 20 metabolitos; de ninguno se ha demostrado una inequívoca actividad biológica. (Murria, R.K. et al., 1994).

6.5- Calcitriol actúa a nivel celular de una manera análoga a otras hormonas esteroides

Los estudios usando calcitriol radiactivo revelaron su localización en los núcleos de las células de las vellosidades intestinales y las células cripticas, osteoblastos y células de los túbulos distales del riñón. También hay acumulación de esta hormona en los núcleos de células de las que antes no se sospechaba fueran blanco, incluyendo las de la capa de Malpighi en la piel; las células de los islotes pancreáticos; algunas células cerebrales; algunas de las hipófisis, ovario, testículos, placenta, útero, glándula mamaria, timo y en precursores mieloides. También se ha encontrado calcitriol fijo a células paratiroides, lo cual conduce a la interesante probabilidad de que intervengan en el metabolismo PTH. (Murria, R.K. et al., 1994).

6.6- El receptor del calcitriol

El receptor para calcitriol es un miembro de la familia de receptores de esteroides. El dominio unión a ligando de este receptor se une a calcitriol con elevada afinidad y baja capacidad. El receptor tiene un

dominio de fijación a DNA que al parecer contiene el "motivo" o factor "dedo de cinc", característico de otros receptores para esteroides. (Murria, R.K. et al., 1994).

6.7- Productos génicos dependientes del calcitriol

Desde hace varios años se sabe que la respuesta del transporte intestinal al calcitriol requiere de RNA y síntesis de proteínas. La observación de la unión del receptor del calcitriol a la cromatina en el núcleo sugiere que el calcitriol estimula la transcripción de los genes y la formación de RNAm específicos. Se ha informado un ejemplo de este tipo, la inducción de un RNAm que cifra para una proteína fijadora de calcio (CBP). (Murria, R.K. et al., 1994).

Existen varias formas citosólicas que se unen al Ca^{2+} con gran afinidad. Un grupo, que comprende varias proteínas de diferente peso molecular, antigenicidad y ubicación tisular (intestino, piel y hueso), depende del calcitriol. De estas, la CBP intestinales la mas estudiada. En las ratas deficientes en vitamina D no se detecta cantidad alguna de la CBP intestinal y la concentración de esta proteína tiene elevada correlación con el grado de localización del calcitriol en el núcleo. (Murria, R.K. et al., 1994).

6.8- Efectos del calcitriol sobre la mucosa intestinal

La transferencia de Ca^{2+} o PO_3^{-4} a través de la mucosa intestinal requiere (1) la captación a través del borde en cepillo y de la membrana de las microvellosidades; (2) el transporte a través de la membrana de las células de la mucosa, y (3) el flujo a través de la membrana lateral basal hacia el liquido extracelular (LEC). Es claro que el calcitriol potencia a uno o más de estos pasos, pero no se ha establecido el mecanismo preciso. Se pensó que la CBP intervenía en forma activa hasta que se observo que la translocación del Ca^{2+} ocurre una o dos horas después de la administración de calcitriol, bastante antes del incremento de la CBP en respuesta al calcitriol. Es posible que esta proteína se una a Ca^{2+} y proteja a la célula mucosa contra el elevado flujo de Ca^{2+} que coincide con el proceso de transporte. Varios investigadores están buscando otras proteínas que pueden intervenir en el transporte de Ca^{2+} , en tanto que otros sugieren el proceso, en particular el incremento temprano del flujo de calcio, puede ser mediado por un cambio en la membrana. También se ha señalado a los metabolitos de polifosfoinosítidos como participantes. (Murria, R.K. et al., 1994).

6.9- Fisiopatología

El raquitismo es un trastorno infantil que se caracteriza por concentraciones plasmáticas bajas de calcio y de fosforo y de una mineralización ósea deficiente con deformidades del esqueleto. La causa mas común de raquitismo es la deficiencia de vitamina D. Hay dos tipos de raquitismo dependiente de la vitamina D. El tipo 1 es un rasgo autosómico recesivo hereditario caracterizado por un defecto en la conversión del 25OH-D_3 a calcitriol. Tipo 2 es un trastorno recesivo autosómico en donde existe cambio de un solo aminoácido en uno de los "dedos de cinc" del dominio de fijación a DNA. El resultado es un receptor no funcional.

La deficiencia de vitamina D en el adulto conduce a osteomalacia. La absorción de calcio y fosforo esta disminuida y por lo tanto, son bajas las concentraciones de estos iones en el LEC. En consecuencia, la mineralización del osteoide para formar hueso está alterada y este hueso submineralizado es estructuralmente débil. (Murria, R.K. et al., 1994).

Cuando una proporción substancial del parénquima renal se pierde o enferma, se reduce la síntesis de calcitriol y disminuye la absorción de calcio. Cuando la hipocalcemia sobreviene, hay un incremento compensatorio de PTH, la cual actúa sobre el hueso en un intento de incrementar el Ca^{2+} del LEC. El extenso recambio óseo, los cambios estructurales y los síntomas relacionados se conocen como osteodistrofia renal. El tratamiento temprano con vitamina D amortigua el proceso. (Murria RK, et al, 1994).

7. El calcitriol es uno de los componentes principales de *Solanum glaucophyllum*, pero no el único con actividad terapéutica

Al tiempo del descubrimiento de altos contenidos del metabolito de la Vitamina D, 1,25-dihidroxivitamina D_3 glicosidado en *Solanum glaucophyllum*, se ha especulado sobre la planta, que puede ser usada para tratar enfermedades óseas en el hombre y en los animales, y la actividad biológica del extracto ha sido explorada en los laboratorios de animales. Tales experimentos usaron bajas cantidades de Vitamina D en animales en orden de probar la actividad de Vitamina D (De Vernejoul et al., 1978). Azcona (Azcona et al, 1928). Morris (Morris KML, 1977) encontró un alto contenido en la cascara del huevo después de alimentar a pollos con hojas secas de *Solanum glaucophyllum*. Nordin (Nordin et al, 1979) noto la masa

ósea mas grande y el fortalecimiento de huesos rotos en pollos después de la aplicación de hojas secas de la misma planta. Un extracto acuoso de la hoja además muestra una alta actividad de vitamina D después de incubación con fluido rumial de bovinos y ovejas (Mello and Habermehl, 1992).

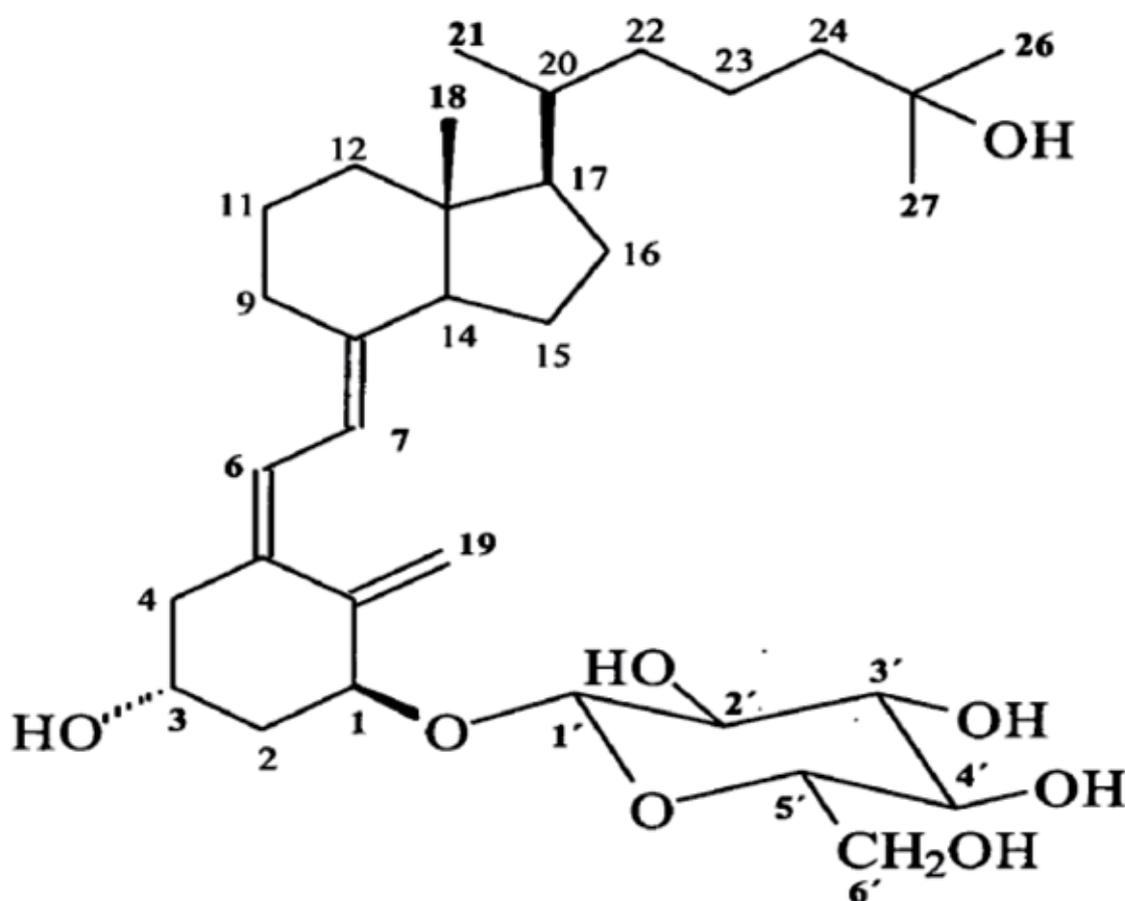


Figura 15. Estructura molecular del calcitriol (1,25-hidroxicolecalciferol D₃ o 1,25-hidroxivitamina D₃) glicosilado. En *Solanum Glaucophyllum*. (Autzen,B. y Heinrich,B., 2011).

Mientras hay una gran cantidad de literatura sobre la vitamina D, componente activo en *Solanum Glaucophyllum*, poco conocimiento hay sobre los otros componentes de la planta. A parte de su componente principal 1,25-hidroxivitamina D₃, en *Solanum Glaucophyllum*, fue encontrado una serie de glicósidos fenólicos por extracción butanólica de la planta incluyendo hidroquinona, kaempferol-3-o-rutinosido e isorhamnetin-2-o-rutinosido. Una nueva quercetina triosa, el compuesto quercetina 3-o- [2G-b-D-aposyl] rutinósido fue también encontrado en *Solanum Glaucophyllum*. Muchos de estos compuestos fenólicos son constituyentes de todas las plantas. (Autzen,B. y Heinrich,B., 2011)

Recientemente, experimentos in vitro indican una inhibición de la formación de osteoclastos y su diferenciación sobre células precursoras osteoclásticas por quercetina y rutina. Yamaguchi encontró un potente efecto inhibitorio sobre la osteoclastogénesis y resorción ósea mas que en la formación de hueso in vitro por quercetina y kaempferol (Yamaguchi et al, 2007). A nivel genómico la quercetina y su glucurónido promueven un incremento de ARNm de sialoproteína ósea (Kim et al, 2007). Otros estudios in vitro en células del linaje osteoclástico confirmaron un efecto inhibitorio sobre la diferenciación osteoclástica, un paso crítico determinante en la resorción ósea, pero no efectos positivos en la formación de hueso fue demostrada (Wattel et al, 2004).

Además de esto, se han dado hojas secas a pacientes con hipertiroidismo e insuficiencia renal durante 7 días. Se observó un efecto normalizador del calcio plasmático (Mautalen et al, 1977; Herat et al, 1977).

8. Materiales y métodos

8.1- Material vegetal

Las partes aéreas de ***Solanum glaucophyllum*** fueron recolectadas en las ciudades de Dolores y de Maipú – Gral. Guido " El cencerro" (Provincia de Buenos Aires), entre los meses de agosto a noviembre del año 2011. (Figura 16).



Figura 16. Duraznillo. Imagen tomada en el mes de enero 2011 (General Guido: "El Cencerro").

8.2- Técnicas histológicas:

El material vegetal fue identificado por la Dra. Etilé Spegazzini y secado en estufa a 40°C.

Hojas:

- 1- Observación superficial: Para la observación con microscopio óptico (MO) de las epidermis foliares (abaxial y adaxial) e inervación se procedió a diafanizar y eliminar la cutina, aplicando la técnica de Carpano y col. (1994).
- 2- Transcortes: Se practicaron cortes transversos con un micrótopo de Ranvier a partir de material fresco. Los cortes se diafanizaron y se colorearon con Safranina-Fast Green para poner de manifiesto los distintos tejidos. (D'Ambrogio de Argueso, 1986).
- 3.- Reacciones histoquímicas: Se realizaron pruebas histoquímicas con azul de metileno para evidenciar mucílagos, acetato cúprico para oxalato de calcio y reactivo de Dragendorff para alcaloides. (Gattuso y Gattuso, 1999).

Tallo

- 1.- Se realizaron cortes transversos con un micrótopo de Ranvier. Se diafanizaron y se colorearon con Safranina-Fast Green. (D'Ambrogio, 1986) .

Polvo

Se llevaron a polvo tallos y hojas del material vegetal

- 1.- El polvo se diafanizó y se observó al microscopio.
- 2.- se establecieron elementos histológicos de diagnóstico de cada órgano.
- 3.-se realizaron reacciones histoquímicas sobre el polvo.

Todas las observaciones de hojas, tallos y polvo se realizaron con Microscopio Olympus triocular y se obtuvieron microfotografías con un con cámara fotográfica.

8.3 - Análisis fitoquímico de polifenoles

Preparación de los extractos:

Para la preparación de los extractos a analizar se utilizó el material vegetal seco y molido de hoja y de tallo en forma separada.

Se prepararon cuatro extractos:

Extracto cloruro de metileno (CH_2Cl_2): se peso la droga vegetal y se colocó en un erlenmeyer de 250 ml. al que se le agregaron 100 ml. de cloruro de metileno; posteriormente se sonicó 20 minutos y filtro. El material sólido se le aplicó la misma operación, por lo que se obtuvo un extracto final con volumen de 200 ml.

Extracto metanólico (CH_3OH): se peso la droga vegetal y se procedió de igual manera que el extracto de cloruro de metileno.

Extracto	Hojas (gramos de polvo)	Tallo (gramos de polvo)
Cloruro de metileno	11,9896	11,9869
Metanol	11,9882	11,9731

8.3.1- Cromatografía en capa delgada (TLC):

Las cromatografías se realizaron sembrando los extractos CH_2Cl_2 y CH_3OH preparados a partir del tallo y hoja de Duraznillo blanco.

Preparación de las soluciones estándares:

Se utilizaron dos flavonoides, rutina y ácido clorogénico (5-O-cafeilquinico).

Solución estándar 1: Concentración 0,1 mg. rutina / 0.1 ml de metanol.

Solución estándar 2: Concentración 0,1 mg de ácido clorogénico / 0,1 ml de metanol.

Sistema Cromatográfico:

Fase estacionaria: Cromatofolios Silicagel Merck HF 254.

Fase móvil: Acetato de etilo/ Acido fórmico/ Acido acético/ Agua (100: 11: 11: 26).

Desarrollo: Hasta una distancia de 10 cm.

Revelado:

Una vez retirada la placa de la cámara, se marcó el frente de solvente y se dejó secar al aire. Luego se examinó la placa bajo lámpara de luz UV 254 nm., UV 366 nm.

Se utilizó el siguiente reactivo revelador:

Anisaldehído.

8.4- Análisis fitoquímico de terpenos esteroides

Suponiendo por los diferentes trabajos publicados que dicha planta posee 1,25-dihidroxitamina D_3 (Calcitriol), o una mezcla de esteroides, y dada la naturaleza de los compuestos que se estaba buscando (terpenos esteroides), se optó por usar como estándar vitamina D_3 (Colecalciferol) por la semejanza de su estructura molecular con la del calcitriol. (ver figura 17 y 18).

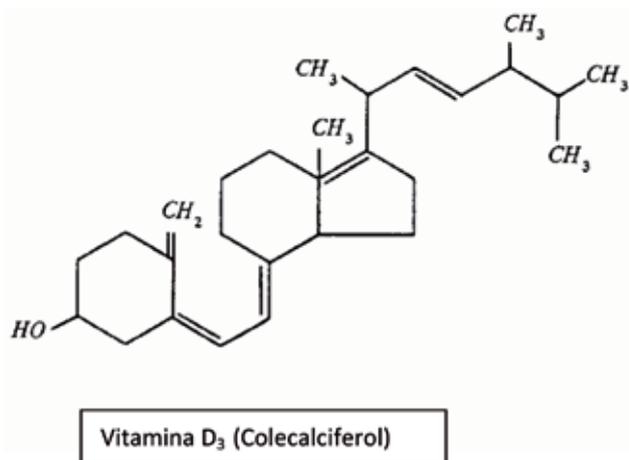


Figura 17

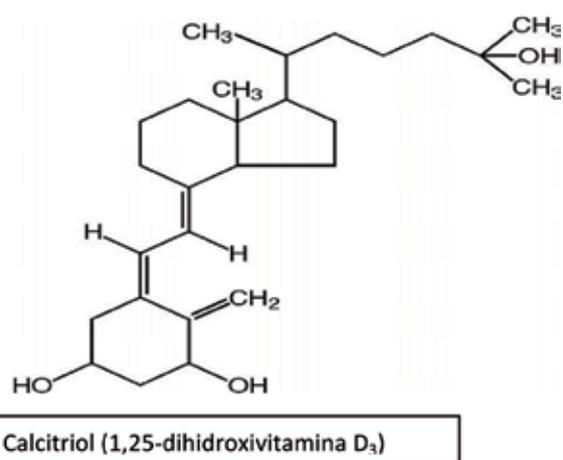


Figura 18

8.4.1-Preparación de los extractos

Para la preparación del extracto a analizar se utilizó el material vegetal seco y molido de hojas de *S. glaucophyllum*.

Extracto cloruro de metileno (CH_2Cl_2): se pesaron 20,19 gramos de droga vegetal y se colocó en un erlenmeyer de 500 ml. al que se le agregaron 170 ml. de cloruro de metileno. Se sonicó 20 minutos y filtro. Se repitió la operación obteniéndose un extracto final con volumen de 340 ml.

8.4.2- Cromatografía en capa delgada (TLC)

Sistema Cromatográfico

Fase estacionaria: Cromatofolios Silicagel Merck HF 254.

Fase móvil: Hexano/ acetato de etilo (70 : 30).

Desarrollo: Hasta una distancia de 10 cm.

Se utilizó el siguiente reactivo revelador: Anisaldehído sulfúrico, que se preparó con 0,5 ml. de anisaldehído mezclado con 10 ml. de ácido acético glacial, seguido por 85ml. de metanol y 5ml. de ácido sulfúrico concentrado.

Muestra a sembrar: extracto CH_2Cl_2 preparado a partir de la hoja de Duraznillo blanco.

Preparación de la solución estándar

36,9 mg. de vitamina D₃ / 1 ml. de etanol

9. Resultados

9.1- De Identidad Botánica

Hoja

En vista superficial se observaron:

-estomas en ambas epidermis, estomas anisocíticos (las tres células subsidiarias que lo rodean no tienen el mismo tamaño), escasos estomas anomocíticos (las células que rodean al estoma son morfológicamente iguales a las epidérmicas) Fig. 19.

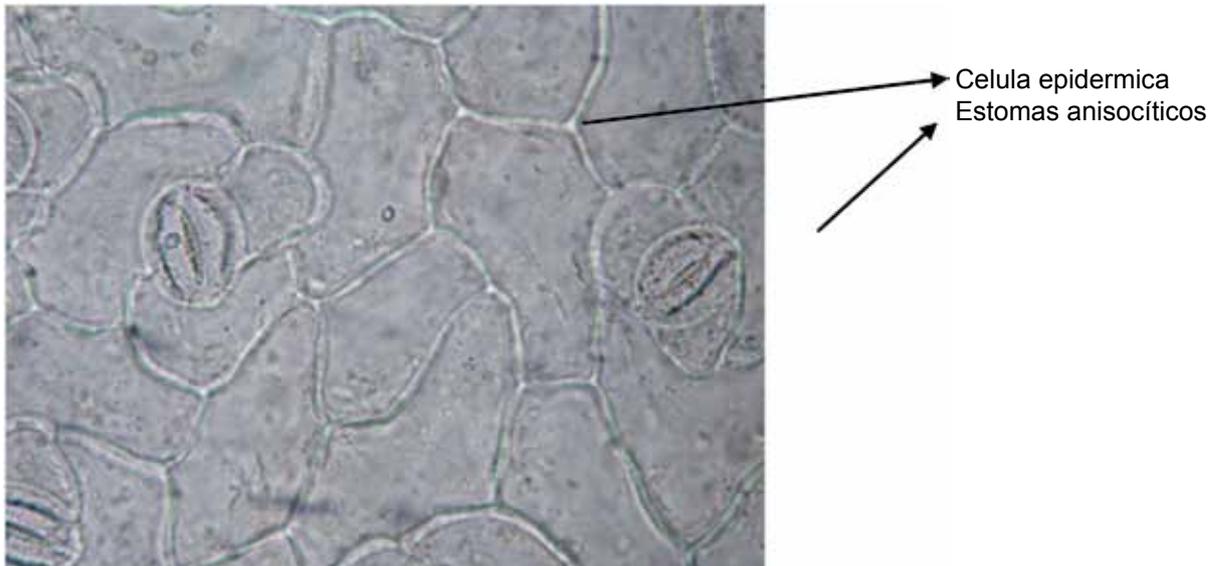


Figura 19. Vista superficial de hoja (400X)

- Islote venoso: sistema vascular de venación reticulada Fig. 20.

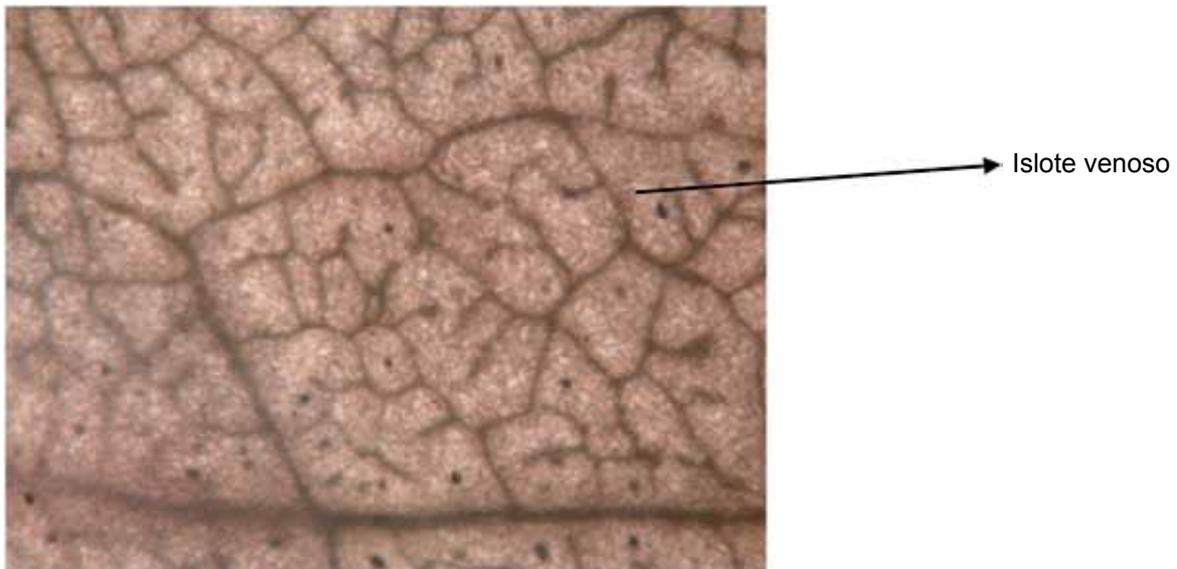


Figura 20. Islote venoso, vista superficial (200X).

-En corte transverso:

Se observó hoja isolaral caracterizada por una o más filas de parénquima en empalizada de ambos lados del mesófilo superior e inferior con cierta cantidad de tejido esponjoso en la parte media. Nervadura principal haz colateral con casquetes de colénquima angular. En el mesófilo masas oscuras de arenas

cristalinas de oxalato de calcio en idioblastos típico del género *Solanum*. Estomas en ambas caras. No se observan tricomas. Fig. 21.

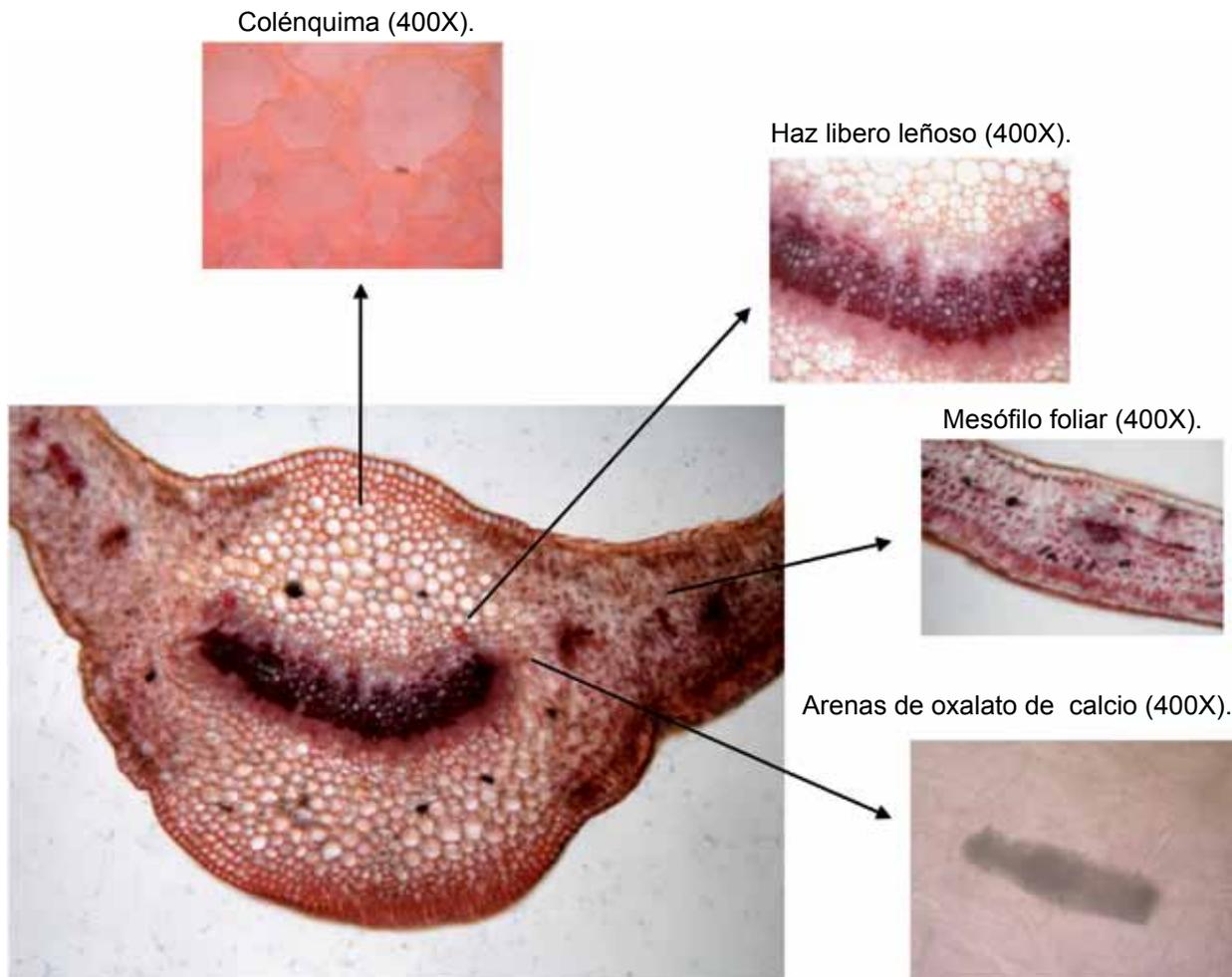


Figura 21. Corte transverso de hoja Duraznillo (200X).

Tallo

En corte transverso: se observó

Sifonoestela anfifloemática (estela compuesta por un cilindro hueco de tejido vascular con una médula central, floema tanto del lado interior como exterior del xilema), cilindro cortical con masas oscuras de arenas cristalinas de oxalato de calcio. Cilindro central con una capa de fibras esclerenquimáticas rodeando al haz libero leñoso. Presencia de médula (Fig. 22).

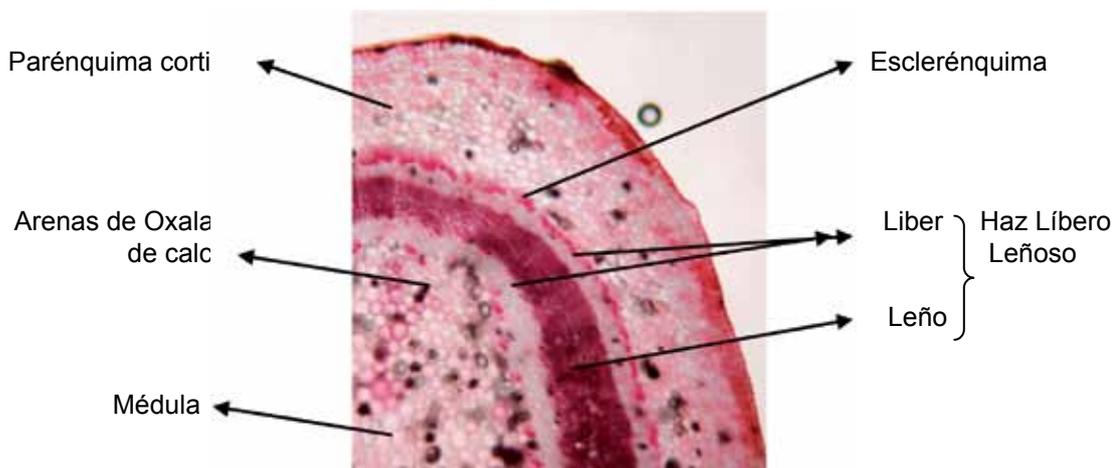


Figura 22. Corte Transverso de tallo: Sifonoestela anfifloemática (200X).

Polvo

Se observaron elementos histológicos de diagnóstico:

- Fibras cristalíferas
- Estomas anisocíticos
- Idioblastos con cristales de oxalato de calcio
- Traqueidas

Fig. 23, 24, 25, 26, 27 y 28.



Figura 23. Polvo (200X).

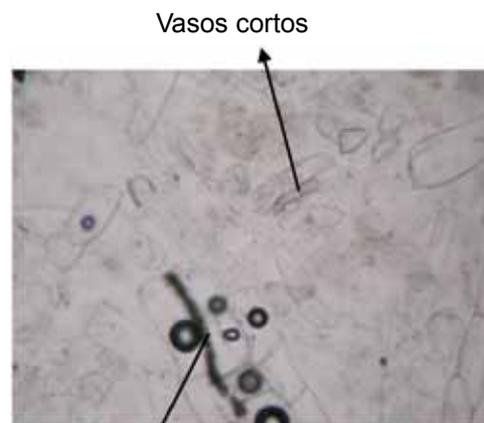


Figura 24. Polvo (200X.)



Estomas

Figura 25. Polvo (200X).



Arenas de Oxalato de calcio

Figura 26. Polvo (200X).

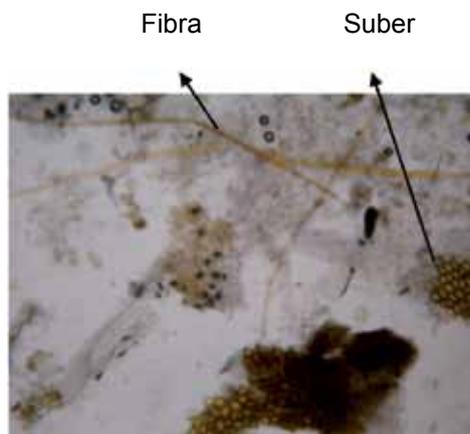


Figura 27. Coloración con Dragendorff (200X).

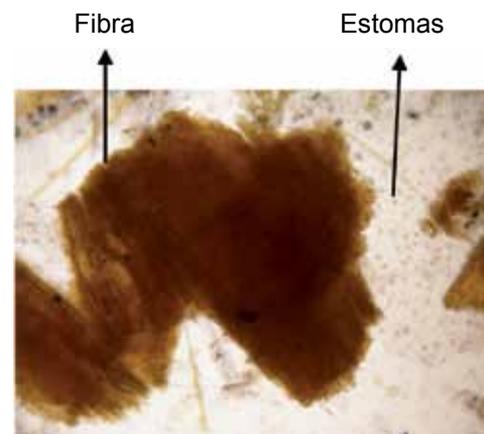


Figura 28. Coloración con Dragendorff (200X).

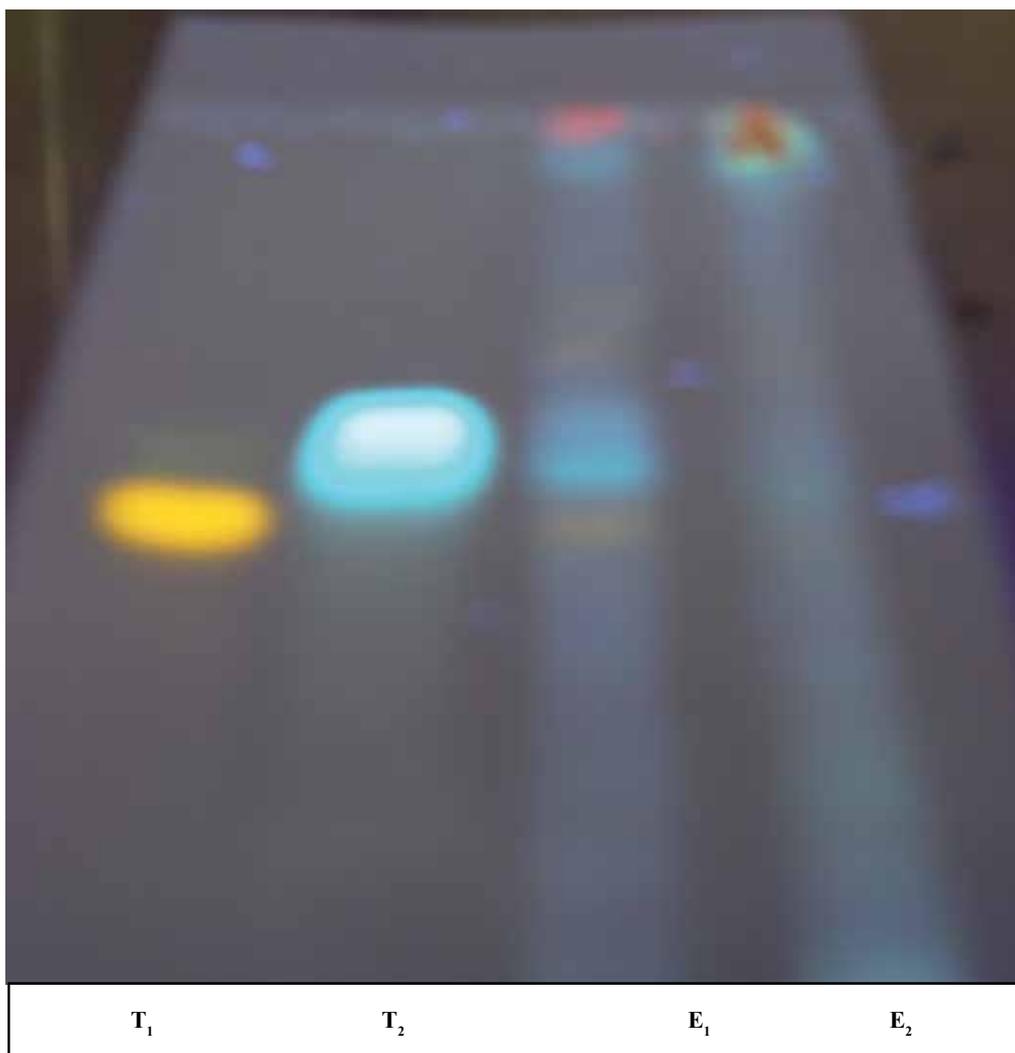
9.2- Perfiles Cromatográficos de TLC:

9.2.1 - Polifenoles

Los extractos de cloruro de metileno y metanol de dicha planta fueron comparados en cromatografía en capa delgada (TLC) y revelados con anisaldehído en tallo y hoja, para la detección de compuestos polifenólicos.

TLC del extracto de cloruro de metileno y metanólico de Tallos de *S. glaucophyllum*:

TLC de tallo
(Figura 29)



Referencias:

T₁: Testigo de Rutina.

T₂: Testigo de Acido clorogénico.

E₁: Extracto de Metanol.

E₂: Extracto Cloruro de metileno.

Revelador: Anisaldehído y UV 366 nm.

	Rf Rutina	Rf Clorogénico
Testigo	0,46	0,49
Extracto Cloruro de Metileno	0,43	-
Extracto Metanólico	0,47	0,50

TLC de hoja
(Figura 30)



Referencias:

T₁: Testigo de Rutina.

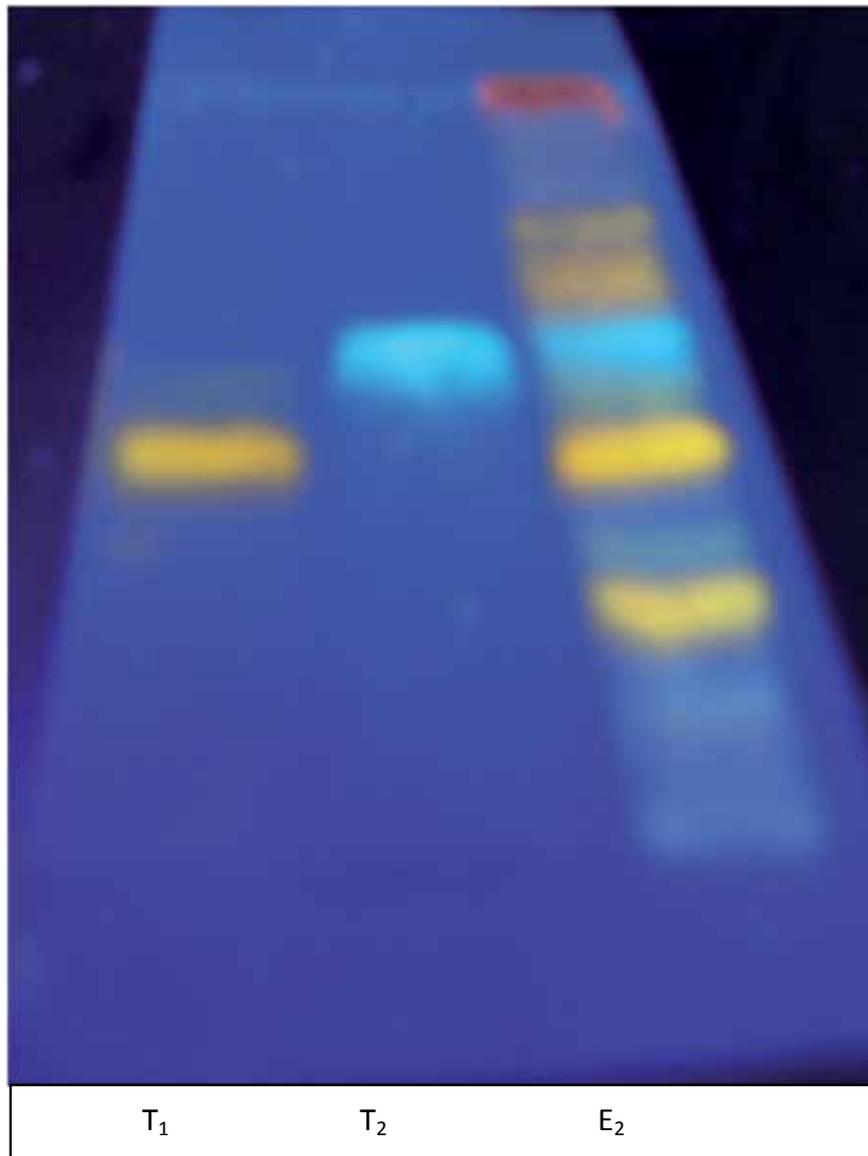
T₂: Testigo de Acido clorogénico.

E₁: Extracto Cloruro de metileno.

Revelador: Anisaldehído y UV 366 nm.

	Rf Rutina	Rf Clorogénico
Testigo	0,45	0,50
Extracto Cloruro de Metileno	0,43	-

TLC de hoja
(Figura 31)



Referencias:

T₁: Testigo de Rutina.

T₂: Testigo de Acido clorogénico.

E₂: Extracto metanólico.

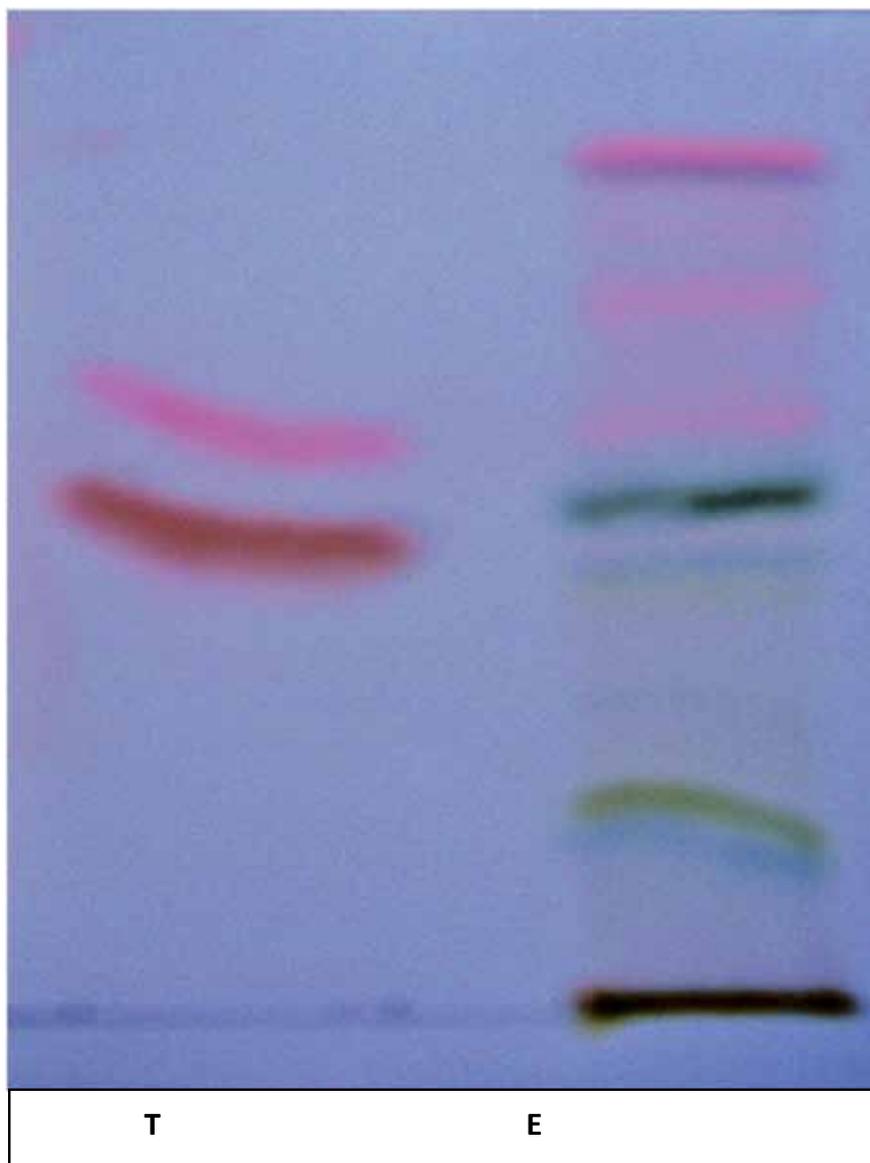
Revelador: Anisaldehído y UV 366 nm.

	Rf Rutina	Rf Clorogénico
Testigo	0,45	0,51
Extracto metanólico	0,43	0,52

9.2.2 - Vitamina D₃ y metabolitos

Los extractos de cloruro de metileno y metanol de dicha planta fueron comparados en cromatografía en capa delgada (TLC) y revelados con anisaldehído - ácido sulfúrico.

TLC de hoja
(Figura 32)



Referencias:

T: Testigo de Rutina.

E: Extracto Metanólico.

Revelador: Anisaldehído - ácido sulfúrico.

	Rf Rutina Vitamina D3
Testigo	0,61
Extracto metanólico	0,63

10. Conclusiones

10.1- Características botánicas

Los caracteres botánicos permitieron identificar la droga cuando esta se encuentre entera fragmentada o pulverizada. Estableciendo elementos histológicos de diagnóstico.

Hoja: estructura isolaral con un haz libero leñoso colateral. Presencia de idioblastos con arenas cristalinas de oxalato de calcio que reaccionan con el acetato cúprico. Estomas en ambas caras anisocíticos y escasos anomocíticos, en vista superficial venación reticulada.

Tallo: Sifonoestela anfifloemática, haz libero leñosos bicolateral. Idioblastos con arenas de oxalato de calcio.

Polvo. Fibras cristalíferas, estomas anisocíticos, masas oscuras de arenas de oxalato de calcio.

10.2- Características fitoquímicas

El duraznillo Blanco como ya se dijo es altamente tóxico para el ganado por lo que estos elementos permitirán detectar en el rumen o en los fardos de alimentos la presencia del mismo, siendo por otro lado un método rápido y de bajo costo.

El duraznillo blanco (*Solanum glaucophyllum*) resultaría una planta viable para el tratamiento de patologías óseas como la osteoporosis, así como para pacientes con insuficiencia hepática o renal que puedan tener una deficiencia en la transformación de vitamina D₃ a calcitriol.

Rigurosos trabajos demuestran que los extractos de dicha planta, pueden administrarse en concentraciones más altas a la de la vitamina D₃ y sus análogos sintéticos, ya que por su estrecha ventana terapéutica puede haber riesgo de hipercalcemia.

Otro factor a favor de este extracto, es que su producción sería más económica, infiriendo en que los análogos sintéticos se proveen por síntesis química estereoselectiva, una labor muy intensa que requiere muchos pasos de síntesis y purificación para obtener la forma pura de vitamina D₃ o sus metabolitos. Sumándose a este proceso costoso, esta la dificultad de satisfacer eficientemente el tratamiento de las patologías mencionadas (la dosis toxica es cercana a la terapéutica).

Los tratamientos que apoyan mecanismos fisiológicos, y además, son de origen natural pueden ser una alternativa valiosa al tratamiento curativo con drogas sintéticas.

Estudiar esta planta, así como también conocer el mecanismo fisiológico de la calcinosis enzoótica sería no solo satisfactorio para una futura aplicación en el área de la medicina humana y veterinaria, sino también para la ganadería argentina, evitando el perjuicio económico que ocasiona esta planta.

11. Bibliografía

1. Arnold RM and Fincham IH (1997). Manchester wasting disease: a calcinosis caused by a pasture grass (*Stenotaphrum secundatum*) in Jamaica. *Tropical Animal Health and Production* 29, 174-176.
2. Autzen,B; Heinrich,B. (2011) Preparation and use of a plant extract from *Solanum Glaucophyllum* with an enriched content of 1,25-Dyhydroxyvitamin D₃ glycosides and quercetin glycosides. Pub. No.: US 2011/0038960 A1.
3. Azcona et al., “Zootécnica Interm”. February 1928p. 12-13.
4. Barros SS and Gimeno EJ (2000). Cell differentiation and bone protein synthesis in the lung of sheep affected by spontaneous calcinosis. *Journal of Comparative Pathology* 123, 000 – 000 (In press).
5. Barros SS, Tabone E, Dos Santos M, Andujar M and Grimaud JA (1981). Histopathological and ultrastructural alterations in the aorta in experimental *Solanum malacoxylon* poisoning. *Virchow Archives (Cell Pathology)* 35, 167-175.
6. Boland AR, Skliar MI, Gallego S, Esparza M and Bolasnd RL (1978). Potentiation of the effects of *Solanum malacoxylon* extracts on rat intestinal phosphate and calcium absorption by incubation with ruminal fluid. *Calcified Tissue Research* 26, 215-219.
7. Calvo, Miguel (2010); *Bioquímica de los alimentos: otras sustancias tóxicas* (pagina web) <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/otrassustancias.html-2010>.
8. Capdevila Cases, M. A., Hernández – Agero. M. T., 2007. “Memorias de las jornadas técnicas dedicadas a PAM”. Brihuega, Guadalajara.
9. Carlberg C. (2000). Conformations of VDR-RXR heterodimers as the molecular switches of 1,25(OH)2D3 signalling. Eleventh Workshop on Vitamin D, Nashville, Tennessee, USA. May 27 June 1, 2000. Abstracts, page 4.

10. Carpano et al (1994). “Nueva técnica de eliminación de cutina en órganos foliares”. *Rojasiana* 2:9-12.
11. Carrillo BJ (1971). The pathology of Enteque Seco and Experimental *Solanum malacoxylon* Toxicity. PhD Thesis, Davis, University of California.
12. Carrillo BJ y Worker NA (1967). Enteque Seco: arteriosclerosis y calcificación metastática de origen tóxico en animales a pastoreo. *Revista de Investigaciones Agropecuarias INTA*, S4, PA 4, 9-30.
13. Collier WA (1927). Zur Kenntnis einer als Enteque bezeichneten Krankheit der Rind in der Provinz Buenos Aires. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten, Parasitär Krankheiten und Hygiene der Haustiere* 31, 81-92.
14. Crenovich H, Ruffini O y Pérez R (1994). Enteque seco: Pérdidas económicas en la Cuenca del Salado. EEA – INTA, Balcarce.
15. Dallorso ME, Bozzo J, Piccardi H, Benassatti S y Boland RL (1994). Niveles de 1,25 dihidroxivitamina D₃ y 1,24,25 trihidroxivitamina D₃ en plasma de bovinos intoxicados experimentalmente con *Solanum glaucophyllum*. *Revista de Medicina Veterinaria* 75, 187-192.
16. D’Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur S.A.
17. De Vernejoul et al. (1978). “La Nouvelle Presse medicale”, 7, 22, 1941-43.
18. Döbereiner J, Tokarnia CH, DaCosta JB, Campos LJ and Dayrell M (1971). ‘Espichamento’: intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon* no pantanal de Mato Grosso. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira. Série Veterinaria* 6, 91-117.
19. Dusso AS and Brown AJ (1998). Mechanisms of vitamin D action and its regulation. *American Journal of Kidney Disease* 32, S13-S24.
20. Eckell OA, Gallo GG, Martín AA y Portela RA (1960). Observaciones sobre el ‘Enteque Seco’ de los bovinos. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias (La Plata)* 6, 5-91.
21. Freedman LP, Rachez Ch, Yang W, Burakov D, Chang B and Gamble M. (2000). A coactivator complex for vitamin D receptors and beyond. Eleventh Workshop on Vitamin D, Nashville, Tennessee, USA. May 27 – June 1, 2000. Abstracts, page 3.
22. Gallo Guillermo (1979). *Plantas toxicas para el ganado en cono Sur de America*. Edit. U2iversitaria de la Universidad de Buenos Aires.
23. Gattuso, Martha y Gattuso, Susana (1999). “Manual de procedimientos para el analisis de drogas en polvo” ed. UNR.
24. Gimeno EJ (1977). Estudio histopatológico del enteque seco experimental en ratas y revisión bibliográfica de las calcinosis. Tesis, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Resumen en: *Analecta Veterinaria* 10, 55-93, 1978.
25. Gimeno Eduardo J. (2001). Publicado en: *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria LIV*, 207-232, 2001. “Calcinosis enzoótica en rumiantes: Un problema vigente de la ganadería nacional”.
26. Gimeno EJ, Costa EF, Gomar MS, Massone AR and Portiansky EL. (2000). Effects of plant induced hypervitaminosis D on cutaneous structure, cell differentiation and cell proliferation in cattle. *Journal of Veterinary Medicine A* 47, 201-211.
27. Gomar MS, Portiansky EL, Dallorso ME, Barros SS, Costa EF and Gimeno EJ. (2000). Cell differentiation and bone protein synthesis in the aorta and lung induced by calcinogenic plants. Eleventh Workshop on Vitamin D, Nashville, Tennessee, USA. May 27 – June 1, 2000. Abstracts, page 22.
28. Guyton (1989). “Tratado de fisiología médica”. 7ª edición. México. Editorial Interamericana.
29. Haussler MR, Wasserman R, McCain TA, Peterlik M, Bursac KM and Hughes MR(1976). 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside: identification of a calcinogenic principle of *Solanum malacoxylon*. *Life Science* 18, 1049-1056.
30. <http://www.aurobindo.ru>
31. <http://www.b-and-t-world-seeds.com>
32. <http://www.wildseed.co.uk>
33. <http://www.vet.uga.edu>
34. <http://www.jardins-interieurs.com>
35. Ikeda T, Shirasawa T, Esaki Y, Yoshiki S and Hirokawa K. (1993). Osteopontin mRNA is expressed by smooth muscle-derived foam cells in human atherosclerotic lesions of the aorta. *Journal of Clinical Investigation* 92, 2814-2820.
36. Kim et al (2007) ; “J” cell *Biochem. Jun.* 1.
37. Marzocca, A. (1997). *Vademecun de Malezas Medicinales de la Argentina. Indígenas y Exóticas*. Orientación grafica editora.
38. Mautalen et al (1977) ; “Calcif Tissue” *Res. May: 22 Suppl: 534-7*; y Herat et al (1977); “Vitamin D, Chemical and Clinical Aspects related to Calcium Metabolism”. Pp. 703-708. W. De Gruyter, Berlin, Germany.
39. Mello and Habermehl, (1992). “Dtsch Tierarztl Wochenschr”. September; 99 (9): 371-6.

40. Medline Plus(2010), Osteoporosis, pagina web: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000360.htm>
41. Moreno, M., Salomón; Denogean, B., Francisco; Martín, R., Martha; Ibarra, F., Fernando y Baldenegro C., Arturo. Efecto de las plantas toxicas para el ganado sobre la producción pecuaria en Sonora. Revista Mexicana de Agronegocios [en línea] 2010, vol. XIV [citado 2012-02-23]. Disponible en Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=14111976004>. ISSN1405-9282.
42. Morris KML, (1977) "The Veterinary Record", 101, 502-504.
43. Morris, KLM (1978). Plant induced calcinosis. *Veterinary and Human Toxicology* 24, 34-48.
44. Murria RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW (1994). "Bioquímica de Harper". 13ª edición. México. Editorial El manual moderno.
45. Nordin et al (1979); "Calcified tissue International" 28 (1): 239-243.
46. Okada EA, Carrillo BJ and Tilley M (1977). *Solanum malacoxylon* Sendtner: A toxic plant in Argentina. *Economic Botany* 31, 225-236.
47. Orsatti MB, Dusso A and Puche RC (1982). Effect of *Solanum glaucophyllum* feeding on erithropoiesis and iron metabolism in the rat. *Medicine (Buenos Aires)* 42, 43-49.
48. Patentabilidad de los extractos vegetales. José Pardo Zapata. Los Lunes del Centro de Patentes (Mayo de 2002).
49. Plantas Medicinales (propiedades, usos, dosis) (1942). "Dramer". Seccion Herboristeria de Drogueria Americana.
50. Puche RC and Locatto ME (1974). Effects of *Solanum malacoxylon* on embrionic bone in vitro and on isolated mitocondria. *Calcified Tissue Research* 16, 216-219.
51. Puche R.C. and Bingley J.B. (1995). *Calcinosis of Cattle in Argentina*. First english edition, Universidad Nacional de Rosario Editora, ISBN No. 950-673-112-8.
52. Portiansky EL, Alonso CR, Costa EF and Gimeno EJ (2000). Changes in the distribution of the fibers of collagenous and elastic systems on the aorta of cattle poisoned by *Solanum glaucophyllum*. XVIII Congress of the European Society of Veterinary Pathology. Amsterdam, Holanda, September 19-22.
53. Regal DS (1983). Experimentelle Untersuchungen zur extraossäuren Verkalkung bei der Hypervitaminose D3. *Zentralblatt für Veterinär-Medizine A*, 30, 93-113.
54. Ronco M (1985). Dispersión del duraznillo blanco (*Solanum glaucophyllum*, Deft.) y su adaptación adaptación a suelos inundables. Tesis, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.
55. Rovira Egidio José L., María Jesús Meis Meis, María José Lucio López, Emilio Cervera Barba, Helena Herranz Sánchez y José Herranz Ruiz (2008). "Estudio del tratamiento homeopático en tendinitis calcificante del hombro". *Revista Medica de Homeopatia*.;1(1):4-12.
56. Skliar MI, Boland RL, Mouriño A and Tojo C (1992). Isolation and identification of vitamin D3, 25-hydroxyvitamin D3, 1,25-dihydroxyvitamin D3 and 1,24,25- trihydroxyvitamin D3 in *Solanum malacoxylon* incubated with ruminal fluid. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 43, 677-682.
57. Troise, Antonio (1935). *Apuntes de Farmacia*. (datos sin publicar).
58. Vega MA, Santamaria E, Morales A and Boland RL. (1985). Vitamin D3, affects growth and Ca²⁺ uptake by *Phaseolus vulgaris* roots cultivated in vitro. *Physiologia Plantarum* 65, 423-427.
59. Walters, M.R. (1992). Newly identified actions of vitamin D endocrine system. *Endocrine Reviews* 13, 719-764.
60. Weissenberg M. (1989). Calcinogenic glycosides. In: *Toxicants of Plant Origin*. Volume II: Glycosides. Editor: P.R.Cheeke. Chapter 7, pp. 201-237. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA.
61. Wattel et al (2004) ; "J Cell Biochem" May. 15; 92 (2): 285-95.
62. Yamaguchi et al (2007); "Mol Cell Biochem". Jun. 1.



