

## Ponencia

## \*Efecto del Medicamento Homeopático en la Señalización Inflamatoria y el Estrés Oxidativo en un Modelo *In Vitro e In Vivo*

\*\*Hugo Arturo Aldana Quintero

### PALABRAS CLAVE:

Rhus tox, Dolor neuropático, Inflamación, Estrés oxidativo, ROS, Citocinas.

### Resumen

El estrés oxidativo y la señalización inflamatoria están involucrados en la manifestación clínica del dolor neuropático. *Toxicodendron pubescens*, conocido como Rhus Tox (RT) se prescribe en la medicina homeopática como remedio antirreumático, antiinflamatorio y analgésico.

En este trabajo se muestra la eficacia antinociceptiva de RT en un modelo de dolor neuropático que permite dilucidar los posibles mecanismos de acción que subyacen su efecto clínico. Así mismo en un modelo *in vitro* utilizando células de glioblastoma U-87 expuestas a estrés oxidativo mediado por lipopolisacárido (LPS) para estudiar el efecto de RT sobre las especies reactivas de oxígeno (ROS), el estado antioxidante y el perfil de citoquinas. De manera muy interesante RT disminuyó el estrés oxidativo y la liberación de citosinas. El tratamiento crónico con altas diluciones homeopáticas de RT durante 14 días mejoró el dolor neuropático evidenciándose como una inhibición de la alodinia mecánica, fría y caliente junto con una mejor velocidad de conducción nerviosa motora (MNCV). RT disminuyó el estrés oxidativo al reducir el contenido de malondialdehído (MDA) y óxido nítrico (NO), respectivamente, junto con la actividad regulada de glutatión (GSH), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa en el nervio ciático de ratas quirúrgicamente operadas. El tratamiento con RT disminuyó significativamente los niveles del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) en comparación con el grupo de control. El efecto protector de RT contra la lesión del nervio ciático inducida por (CCI) el estudio histopatológico mostró el mantenimiento de la arquitectura de las fibras nerviosas y la inhibición de los cambios inflamatorios. En general, RT demostró un efecto neuroprotector en el modelo de dolor neuropático inducido por CCI lo que sugiere la participación de mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios.

### Abstract

*Both oxidative stress and inflammatory signaling are involved in the clinical manifestation of neuropathic pain. Toxicodendro pubescens, also known as Rhus Tox (RT) is often prescribed in homeopathic medicine as a remedy for rheumatism, as well as an analgesic and an anti-inflammatory.*

\*Ponencia presentada el 21 de octubre de 2021 en el XLI Congreso Nacional de Medicina Homeopática, celebrado de manera virtual.

\*\*Doctor en Ciencias. Catedrático e investigador del Centro Interdisciplinario de Ciencias de la Salud, Unidad Milpa Alta, Instituto Politécnico Nacional.

Recibido: noviembre, 2021. Aceptado: diciembre, 2021.

**KEYWORDS:**

Rhus tox, neuropathic pain, inflammation, oxidative stress, ROS, Cytokines.

*This work shows the anti-nociceptive efficacy of RT in a model of neuropathic pain, which contributes to elucidate the possible mechanisms of action that underlay its clinical effect. This is done with an in vitro model, utilizing U-Glioblastoma cells (U-87) exposed to oxidative stress mediated by lipopolysaccharide (LPS), to study the following: the effects of RT on oxygen-reactive-species (ROS), the antioxidant state and the cytokine profile. Interestingly, RT reduced oxidative stress and the liberation of cytokines. Chronic treatment with high-level homeopathic dilutions for 14 days improved neuropathic pain, which was evidenced by the inhibition of mechanical allodynia, both hot and cold, along with an improved motor nerve conduction (MNCV). RT diminished oxidative stress by reducing the amount of malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO), respectively, along with the glutathione regulated activity (GSH), superoxide dismutase (SOD) and catalase in the sciatic nerve of surgically intervened rats. Treatment with RT significantly reduced the levels of: Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-6, and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) compared to the control group. The protective effect of RT against Chronic-Constriction-Injury-(CCI) induced sciatic nerve lesion, the histopathological study showed maintenance in the architecture of nervous fibers and an inhibition of inflammatory changes. In general RT, showed a neuroprotective effect in the model of CCI-induced neuropathic pain, which suggests that both its anti-inflammatory and antioxidant effects play a role.*

Cuando el equilibrio homeostático es perturbado por agentes biológicos, sustancias químicas, traumatismos u otros factores, las células que componen los tejidos lesionados, así como las células responsables de la respuesta de defensa, liberan múltiples mediadores químicos que dan lugar a cambios espectaculares en los tejidos lesionados y no lesionados. Este complejo e intrincado proceso de cambios tisulares, celulares y moleculares se denomina inflamación; para fines académicos, el proceso inflamatorio se ha organizado en 4 etapas. Sin embargo, varias de estas etapas ocurren de manera simultánea involucrando la liberación y/o síntesis de diversos mediadores bioquímicos pro-inflamatorios que garanticen la eficiencia del proceso con el objetivo de identificar, contener y reparar el daño.

Uno de estos mediadores de daño involucrados en la inflamación es la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), que son responsables de mantener un estado oxidativo o, mejor dicho, de estrés oxidativo, lo que induce al organismo a un estado pro-inflamatorio que activa la liberación de citocinas, las cuales, a su vez, desencadenan efectos de tipo vasodilatación y quimiotaxis, entre muchos otros.

La búsqueda de un manejo novedoso del proceso inflamatorio y sus manifestaciones clínicas (el dolor, concretamente) ha permitido que los científicos básicos y clínicos busquen y diseñen

nuevas y mejores estrategias farmacológicas, así como esquemas terapéuticos. Para ello, es necesario la utilización de modelos experimentales que simulen los cambios inflamatorios que se desencadenan bajo condiciones semejantes a las que se presentan por la perturbación de algún agente extraño o la cronicidad de patologías que involucran cambios estructurales en los nervios periféricos en los humanos, por ejemplo, la inflamación y el dolor neuropático adyacente en pacientes con diabetes *mellitus* crónica, sobre todo en quienes acusan un deficiente control glucémico, donde el dolor neuropático está condicionado a presentar daño estructural de algún nervio.

El dolor neuropático representa una condición clínica importante por su alta incidencia, lo que condiciona que hoy día haya una búsqueda y un desarrollo continuos de nuevos y mejores tratamientos. El dolor neuropático se caracteriza por presentar anomalías sensoriales como disestesia (sensación desagradable), hiperalgesia (aumento de la sensibilidad a los estímulos nocivos), alodinia (aumento de la sensibilidad a los estímulos no nocivos) y desarrollo espontáneo de dolor.

El dolor neuropático tiene una fisiopatología compleja que involucra distintos mecanismos. La alta incidencia de este padecimiento se relaciona con el aumento poblacional de la tercera edad, así como con el incremento progresivo de casos de diabetes *mellitus*, sobrepeso, obesidad y síndrome metabólico. Es por ello que el estudio y el entendimiento de

las cascadas de señalización involucradas en el dolor neuropático y el estrés oxidativo, así como la búsqueda de una modulación del proceso inflamatorio inherente al mismo, siguen siendo un desafío.

Para estos fines, el modelo de lesión por constricción crónica (CCI) es un modelo animal bien establecido, estandarizado y avalado como de uso frecuente para el estudio del dolor neuropático. En este modelo, la ligadura unilateral del nervio ciático pretende mimetizar el proceso fisiopatológico que desencadena el dolor neuropático en humanos. En este trabajo se muestran algunos de los acercamientos científicos de reciente desarrollo relacionados con el efecto antinociceptivo de un medicamento homeopático en modelos de dolor neuropático, tanto *in vitro* como *in vivo*, además de evidenciar a partir de muestras histopatológicas de los nervios manipulados los cambios estructurales de aquellos grupos sometidos al modelo de CCI vs. el grupo control.

*Toxicodendron pubescens*, conocido popularmente como **Rhus tox** (RT) en la farmacopea homeopática, se prescribe ampliamente en procesos inflamatorios, reumáticos y dolores crónicos relacionados con patologías autoinmunes y osteo-tendinosas. Ya se ha documentado la actividad antiinflamatoria, antiartrítica e inmunomoduladora de RT; sin embargo, a continuación les mostraré algunas evidencias que un grupo de investigadores ha publicado recientemente sobre el efecto antinociceptivo y sus mecanismos subyacentes de RT en un modelo *in vivo* de dolor neuropático. Asimismo, a través de un modelo *in vitro* que utiliza una línea celular de glioblastoma U-87 se indujo la liberación de ROS mediado por lipopolisacárido (LPS) y se analizó el efecto de RT sobre las ROS, el estado antioxidante y el perfil de citocinas.

De manera muy interesante, RT disminuyó el estrés oxidativo y la liberación de citocinas con restauración de sistemas antioxidantes. Asimismo, el tratamiento crónico con ultradiluciones de RT durante 14 días, con el modelo *in vivo* de dolor neuropático en ratas Wistar, reveló una inhibición de la alodinia fría, caliente y mecánica junto con una mejoría de la velocidad de conducción del nervio motor (MNCV). Dicho sea de paso, es el nervio que fue coartado o constricto quirúrgicamente para así dar paso al daño estructural y, por ende, generar la presencia de dolor.

RT disminuyó el estado oxidativo al reducir el contenido de malondialdehído (MDA), producto final de la lipoperoxidación utilizado ampliamente

como bio-marcador de estrés oxidativo y óxido nítrico (NO), respectivamente, con glutatión regulado a la alza (GSH), superóxido dismutasa (SOD) y actividad catalasa en el nervio ciático de las ratas. El tratamiento con RT redujo significativamente los niveles séricos del factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), en comparación con el grupo de control o grupo de ratas falsamente operadas (Sham). Se demostró el efecto protector de RT ante la lesión generada por la coartación del nervio ciático inducida (CCI), a través de muestras histopatológicas de la arquitectura del nervio ciático, coartado vs. grupo control.

Así, el efecto del medicamento homeopático RT sobre el modelo *in vivo* de dolor neuropático, e *in vitro* de estrés oxidativo, sugiere la participación de RT en mecanismos de señalización relacionados con la respuesta antioxidante y antiinflamatoria.

A pesar del surgimiento de nuevas tecnologías y estrategias farmacológicas en el campo de las neurociencias, el tema del manejo del dolor neuropático con remedios seguros y efectivos aún no se ha resuelto. Son varios los estudios y los ensayos controlados que han demostrado la eficacia clínica de los opioides, los gabapentinoides, los antidepresivos tricíclicos, los inhibidores de la recaptación de serotonina y los ligandos de los canales de Ca<sup>2+</sup> en el tratamiento del dolor neuropático. Sin embargo, estos agentes aún no son suficientes. La eficacia de los fármacos anti-neuropáticos disponibles es limitada debido a sus efectos secundarios y al alivio del dolor inadecuado o retardado.

Varios factores contribuyen a la sensibilización periférica y al inicio del dolor neuropático, por citar algunos: aumento del estrés oxidativo, incremento de la permeabilidad vascular y liberación de diferentes mediadores inflamatorios, incluida el péptido relacionado con el gen P y la calcitonina producido por terminales nociceptivas, la formación y/o liberación de bradicinina, prostaglandinas, factores de crecimiento y citosinas; todo ello conduce al daño estructural de los nervios periféricos y, por ende, a la presencia de dolor neuropático.

Recientemente se están investigando agentes antiinflamatorios y antioxidantes como la N-acetil carnitina y el ácido alfa-lipoico como medicamentos complementarios para el tratamiento del dolor neuropático. Los productos naturales o las medicinas complementarias y alternativas se utilizan con frecuencia para tratar los trastornos neurológicos crónicos.

Pocos son los estudios preclínicos sobre remedios homeopáticos que han demostrado cierta eficacia en el tratamiento del dolor neuropático. Encuestas basadas en evidencia han revelado que los pacientes con dolor crónico prefieren utilizar tratamientos con base en hierbas para estas condiciones dolorosas.

Varios estudios preclínicos y clínicos han reportado el efecto benéfico del uso de plantas medicinales en la terapia de neuropatía dolorosa. *Toxicodendron pubescens* pertenece a la familia *anacardiaceae*. RT es un remedio homeopático de uso común para el manejo de enfermedades inflamatorias, dolores reumáticos y fiebre tifoidea, entre otras muchas más. Estudios experimentales han demostrado que RT posee efectos inmunomoduladores, antiinflamatorios, actividad anti-artrítica y anti-melanoma.

Recientemente, un estudio clínico observacional prospectivo en pacientes con cáncer de mama reportó que RT disminuyó el dolor y la rigidez articular en mujeres con dicho diagnóstico. Así, una vez más se demuestra de manera franca y clara el efecto que el medicamento homeopático ejerce sobre procesos biológicos a través de la utilización de modelos animales, celulares y técnicas de biología molecular estandarizadas y bajo condiciones controladas.

De esta manera se muestra la vigencia en el campo de la investigación básica y clínica del método médico homeopático. No olvidemos que, gracias a las investigaciones y las nuevas tecnologías basadas en el conocimiento científico organizado y bien estructurado, empieza a desarrollarse una de las áreas más controvertidas y de difícil acceso del modelo homeopático: las altas diluciones.

## REFERENCIAS

- Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, Freeman R, Truini A, Attal N, Finnerup NB, Eccleston C, Kalso E, Bennett DL, Dworkin RH, Raja SN. Neuropathic pain. Nature Reviews Disease Primers 3, 17002 (2017). Nat Rev Dis Primers. 16 Feb 2017; 3: 17002. doi: 10.1038/nrdp.2017.2.
- Liu N, Li YX, Gong SS, Du J, Liu G, Jin SJ, Zhao CJ, Niu Y, Sun T, Yu JQ. Antinociceptive effects of gentiopicroside on neuropathic pain induced by chronic constriction injury in mice: a behavioral and electrophysiological study. Can J Physiol Pharmacol. Jul 2016; 94(7): 769-778. doi: 10.1139/cjpp-2015-0462.
- Kim HJ. Berberine Ameliorates Allodynia Induced by Chronic Constriction Injury of the Sciatic Nerve in Rats. J Med Food. Ago 2015; 18(8): 909-915. doi: 10.1089/jmf.2014.3346.
- Shahid M, Subhan F, Ahmad N, Ullah I. A bacosides containing Bacopa monnieri extract alleviates allodynia and hyperalgesia in the chronic constriction injury model of neuropathic pain in rats. BMC Complement Altern Med. 2017; 17: 293. doi: 10.1186/s12906-017-1807-z.
- Chanchal SK, Mahajan UB, Siddharth S, Reddy N, Goyal SN, Patil PH, Bommanahalli BP, Kundu CN, Patil CR, Ojha S. In vivo and in vitro protective effects of omeprazole against neuropathic pain. Sci Rep. 20 Jul 2016; 6: 30007. doi: 10.1038/srep30007.
- Attal N. Pharmacologic treatment of neuropathic pain. Acta Neurol Belg. Mar 2001; 101(1): 53-64. Pubmed PMID: 11379277.
- Cohen SP, Mao J. Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications. BMJ. 5 Feb 2014; 348: f7656. doi: 10.1136/bmj.f7656.
- Jia S, Zhang Y, Yu J. Antinociceptive Effects of Isosakuranetin in a Rat Model of Peripheral Neuropathy. Pharmacology. 2017; 100(3-4): 201-207. doi: 10.1159/000478986.
- Kishore L, Singh R. Effects of different homeopathic potencies of Cephalendra indica in treatment of neuropathic pain in streptozotocin induced diabetes. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University. Dic 2017; 55(2): 273-280. doi: 10.1016/j.bfopcu.2017.06.002.
- Mohammadi R, Amini K, Charehsaz, S. Homeopathic treatment for peripheral nerve regeneration: an experimental study in a rat sciatic nerve transection model. Jul 2012; 101(3): 141-146. doi: 10.1016/j.homp.2012.05.002.
- Boyd A, Bleakley C, Hurley DA, Gill C, Hannon-Fletcher M, Bell P, McDonough S. Herbal medicinal products or preparations for neuropathic pain. Cochrane Database Syst Rev. 2 Abr 2019; 4(4): CD010528. doi: 10.1002/14651858.CD010528.pub4.
- Boyd A, Bleakley C, Gill C, McDonough S, Hurley DA, Bell P, McVeigh JG, Hannon-Fletcher M. Herbal medicinal products or preparations for neuropathic pain and fibromyalgia. Cochrane Database Syst Rev. 13 may 2013. doi: 10.1002/14651858.CD010528.

13. Muthuraman A, Singh N. Attenuating effect of *Acorus calamus* extract in chronic constriction injury induced neuropathic pain in rats: an evidence of anti-oxidative, anti-inflammatory, neuroprotective and calcium inhibitory effects. *BMC Complement Altern Med.* 22 Mar 2011; 11: 24. doi: 10.1186/1472-6882-11-24.
14. Kaur G, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Ameliorative potential of *Ocimum sanctum* in chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *An Acad Bras Cienc.* Mar 2015; 87(1): 417-429. doi: 10.1590/0001-3765201520130008.
15. Zhou J, Wang L, Wang J, Wang C, Yang Z, Wang C, Zhu Y, Zhang J. Paeoniflorin and Albiflorin Attenuate Neuropathic Pain via MAPK Pathway in Chronic Constriction Injury Rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016; 2016: 8082753. doi: 10.1155/2016/8082753.
16. Nurmikko TJ, Serpell MG, Hoggart B, Toomey PJ, Morlion BJ, Haines D. Sativex successfully treats neuropathic pain characterised by allodynia: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Pain.* 15 Dic 2007; 133(1-3): 210-220. doi: 10.1016/j.pain.2007.08.028.
17. Babbar S, Marier JF, Mouksassi MS, Beliveau M, Vanhove GF, Chanda S, Bley K. Pharmacokinetic analysis of capsaicin after topical administration of a high-concentration capsaicin patch to patients with peripheral neuropathic pain. *Ther Drug Monit.* Ago 2009; 31(4): 502-510. doi: 10.1097/FTD.0b013e3181a8b200.
18. Fisher P, Scott DL. A randomized controlled trial of homeopathy in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* Sep 2001; 40(9): 1052-1055. doi: 10.1093/rheumatology/40.9.1052.
19. Dos Santos AL, Perazzo FF, Cardoso LGV, Carvalho JCT. In vivo study of the anti-inflammatory effect of *Rhus toxicodendron*. *Homeopathy.* Abr 2007; 96(2): 95-101. doi: 10.1016/j.homp.2007.03.001.
20. Verma, P. & Vaid, I. (Jain Publishers, New Delhi, India, 2002).
21. Patil CR, Salunkhe PS, Gaushal MH, Gadekar AR, Agrawal AM, Surana SJ. Immunomodulatory activity of *Toxicodendron pubescens* in experimental models. *Homeopathy.* Jul 2009; 98(3): 154-159. doi: 10.1016/j.homp.2009.02.011.
22. Patil CR, Gadekar AR, Patel PN, Rambhade A, Surana SJ, Gaushal MH. Dual effect of *Toxicodendron pubescens* on Carrageenan induced paw edema in rats. *Homeopathy.* Abr 2009; 98(2): 88-91. doi: 10.1016/j.homp.2009.01.003.
23. Patel DR, Ansari IA, Kachchhi YN, Patel RB, Patil KR, Jadhav RB, Patil CR. *Toxicodendron pubescens* retains its anti-arthritis efficacy at 1M, 10M and CM homeopathic dilutions. *Homeopathy.* Jul 2012; 101(3): 165-170. doi: 10.1016/j.homp.2012.02.007.
24. Patil CR, Rambhade AD, Jadhav RB, Patil KR, Dubey VK, Sonara BM, Toshniwal SS. Modulation of arthritis in rats by *Toxicodendron pubescens* and its homeopathic dilutions. *Homeopathy.* Jul 2011; 100(3): 131-137. doi: 10.1016/j.homp.2011.01.001.
25. Guimarães FSF, Abud APR, Oliveira SM, Oliveira CC, César B, Andrade LF, Donatti L, Gabardo J, Trindade ES, Buchi DF. Stimulation of lymphocyte anti-melanoma activity by co-cultured macrophages activated by complex homeopathic medication. *BMC Cancer.* 22 Ago 2009; 9: 293. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-293>.
26. Karp JC, Sanchez C, Guilbert P, Mina W, Demonceaux A, Curé H. Treatment with *Ruta graveolens* 5CH and *Rhus toxicodendron* 9CH may reduce joint pain and stiffness linked to aromatase inhibitors in women with early breast cancer: results of a pilot observational study. *Homeopathy.* Nov 2016; 105(4): 299-308. doi: 10.1016/j.homp.2016.05.004.
27. Chen L, Chen W, Qian X, Fang Y, Zhu N. Liquiritigenin alleviates mechanical and cold hyperalgesia in a rat neuropathic pain model. *Sci Rep.* 14 Jul 2014; 4:5676. doi: 10.1038/srep05676.
28. De Vry J, Kuhl E, Franken-Kunkel P, Eckel G. Pharmacological characterization of the chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol.* 3 May 2004; 491(2-3): 137-148. doi: 10.1016/j.ejphar.2004.03.051.