

PLANTAS QUE CONTIENEN VITAMINA D₃ Y METABOLITOS RELACIONADOS

Mario I. Skliar y Alejandro C. Curino

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670, 8000 Bahía Blanca, E-mail: mskliar@criba.edu.ar

La vitamina D₃ juega un papel esencial en la regulación del metabolismo del calcio en animales superiores. Hasta hace pocos años se desconocía la presencia de vitamina D en plantas. Sin embargo, la provitamina D₂ o ergosterol está ampliamente distribuida en fanerógamas y criptógamas (1) y mediante su exposición a irradiación ultravioleta es posible generar actividad vitamina D. Recientemente se ha detectado la presencia de cantidades apreciables de derivados de vitamina D₃ en ciertas especies vegetales a partir de la observación de que la ingestión de estas plantas por animales origina un cuadro de intoxicación por vitamina D (calcinosis) (2).

El objetivo de esta revisión fue recopilar información sobre la presencia de vitamina D₃ y sus metabolitos en distintas especies de plantas y los trastornos que provoca la ingestión de esos vegetales en el ganado de pastoreo.

PRESENCIA DE VITAMINA D₃ Y COMPUESTOS RELACIONADOS EN PLANTAS

En la Tabla 1 se presenta el listado de especies (familias) en las cuales se han detectado esteroides de vitamina D₃ y/o actividad vitamina D. Como se puede apreciar predomina la familia Solanaceae.

El *Solanum glaucophyllum* (Solanaceae) es una fuente importante de vitamina D. Mediante la aplicación de técnicas combinadas de cromatografía gaseosa y espectrometría de masas se obtuvo un espectro idéntico al de 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ [1 α ,25(OH)₂D₃] a partir de la sustancia bioactiva purificada (3,4). Estos resultados se han confirmado y ampliado con la detección en hojas, cultivos de callos y de suspensiones celulares, por medio de ensayos de ligado competitivo de [³H]1 α ,25(OH)₂D₃ a receptor intestinal de pollo (VDR), HPLC y espectrometría de masas, de 7-dehidrocolesterol, vitamina D₃, 25-hidroxitamina D₃ [25(OH)D₃], 1 α ,25(OH)₂D₃ y 1 α ,24,25-trihidroxitamina D₃ (5,6). La actividad antiraquítica de las hojas de *Solanum glaucophyllum* está influenciada por la localización geográfica de las plantas o por las condiciones climáticas, habiéndose medido las cantidades más altas de actividad en aquellas hojas de la Solanácea provenientes de áreas subtropicales, en las cuales la calcinosis del ganado se observa más frecuentemente. La etapa del desarrollo en que se encuentra la planta también afecta el contenido de compuestos de vitamina D₃. Se ha podido comprobar una mayor actividad biológica en el estado vegetativo que en el estado reproductivo (7).

En *Cestrum diurnum* (Solanaceae) se ha evidenciado la presencia de vitamina D₃, 25(OH)D₃ y 1 α ,25(OH)₂D₃ en base a la caracterización de los efectos biológicos de extractos de la planta en pollos alimentados con dieta conteniendo estroncio (8) y a la identificación directa en extractos lipofílicos de hojas del vegetal incubados con

glucosidasas comerciales por medio de cromatografía gaseosa y espectrometría de masas (9). Se ha informado que la actividad vitamina D del *Cestrum diurnum* es inferior a la del *Solanum glaucophyllum*.

En *Trisetum flavescens* (Gramineae) se ha demostrado la presencia de vitamina D₃. El esteroil fue aislado por HPLC a partir de extractos etéreos de hojas e identificado por cromatografía gaseosa y espectrometría de masas combinadas (10). Hay evidencia que muestra además la presencia de actividad 1 α ,25(OH)₂D₃ en la planta (11).

Dactylis glomerata (Gramineae) exhibe también actividad vitamina D. En sus raíces se han detectado vitamina D₃ por espectroscopía infrarroja y cromatografía gaseosa/espectrometría de masas (12).

La incorporación de hojas secas de *Solanum torvum* (Solanaceae) a la dieta de ratas induce hipercalcemia, hiperfosfatemia y calcificación de tejidos blandos (13), mientras que la administración de extractos hidrosolubles de *Solanum verbascifolium* (Solanaceae) eleva el nivel de fósforo sanguíneo en dichos animales (14), lo que es compatible con la existencia de esteroides de vitamina D₃ en ambas especies vegetales.

Se ha demostrado la presencia de vitamina D₃ y D₂ en plantas de *Medicago sativa* (alfalfa) (Leguminosae) expuestas a irradiación ultravioleta por medio de HPLC-cromatografía ultravioleta y espectrometría de masas (15).

En extractos clorofórmicos de hojas de *Lycopersicon esculentum* (tomate) (Solanaceae) se determinó la presencia de vitamina D₃, 25(OH)D₃ y 1 α ,25(OH)₂D₃ por técnicas de HPLC seguida por espectrometría de masas (16,17).

Las hojas de *Solanum tuberosum* (papa) (Solanaceae) y *Curcubita pepo* (cierto tipo de zapallito) (Cucurbitaceae) contienen vitamina D₃, la que fue detectada por medio de HPLC y espectrometría de masas (16).

Investigaciones recientes en *Nicotiana glauca* (Solanaceae) han demostrado la presencia de 7-dehidrocolesterol, vitamina D₃, 25(OH)D₃ y 1 α ,25(OH)₂D₃ en hojas y cultivo de callos por ensayos de ligado a radioreceptor, HPLC e identificados por espectrometría de masas (18).

La ingestión de *Nierembergia veitchii* (Solanaceae) produjo en el ganado ovino calcosis enzoótica con características y consecuencias similares a la intoxicación producida por *Solanum glaucophyllum* en el ganado bovino, lo que induce a pensar que esta Solanácea también contiene vitamina D₃ y/o alguno/s de sus derivados (19).

METABOLISMO Y ACCIÓN FISIOLÓGICA DE VITAMINA D₃ EN VEGETALES

La síntesis de la vitamina D en plantas ocurriría por la activación fotolítica de un precursor igual que en la piel de los animales. Así por ejemplo, se ha demostrado que la actividad vitamina D del *Trisetum flavescens* en ratas, requiere que la planta haya estado expuesta previamente a la irradiación ultravioleta (20). Se ha obtenido evidencia sobre la presencia en *Solanum glaucophyllum* de las enzimas y sustratos requeridos en la conversión de vitamina D₃ a 1 α ,25(OH)₂D₃ por hidroxilaciones sucesivas, tal como ocurre en animales (21). En estos experimentos las actividades de la vitamina D₃-25-hidroxilasa y de la 25(OH)D₃-1 α -hidroxilasa fueron detectadas en las hojas de la planta, en microsomas y mitocondrias respectivamente. No obstante, en recientes investigaciones llevadas a cabo en *Solanum glaucophyllum* con cultivos de callos y suspensiones celulares creciendo en estrictas condiciones de oscuridad, pudieron ser identificados vitamina D₃, su precursor el

7-dehidrocoesterol y dos de sus principales metabolitos 25(OH)D₃ y 1α,25(OH)₂D₃. Esto está sugiriendo que una ruta sintética de compuestos de vitamina D₃, independientemente de la luz, está operando en cultivos in vitro de esta planta (6).

En cuanto a la acción fisiológica que la vitamina D₃ podría ejercer en vegetales, se ha informado que el esteroide afecta la secreción de peroxidasa en cultivo de células de *Beta vulgaris* (22), la formación de esporas en hongos (23) y la diferenciación de raíz en *Populus tremula* (24) y en *Phaseolus aureus* (25). Estos experimentos fueron realizados in vitro a concentraciones de vitamina D₃ de alrededor de 10⁻⁴ – 10⁻⁵ M. Estudios llevados a cabo con bajas concentraciones de vitamina D₃ (10⁻⁹ M) han mostrado que el esteroide afecta la elongación, captación de calcio y síntesis *de novo* de calmodulina en raíces de *Phaseolus vulgaris* (26).

TOXICIDAD PRODUCIDA EN ANIMALES POR LA INGESTIÓN DE *SOLANUM GLAUCOPHYLLUM*

El Enteque seco es una enfermedad crónica, emaciante del ganado bovino, ovino y equino de ciertas áreas de pastoreo de nuestro país que ocasiona considerables pérdidas económicas. Si bien los tres tipos de ganado mencionados son propensos a la enfermedad, los efectos económicos más serios se manifiestan en los bovinos (27). La enfermedad es conocida desde el siglo pasado en la Argentina, estableciéndose que el Enteque seco es enzoótico en las Provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos y Corrientes, territorios coincidentes con las áreas de distribución del *Solanum glaucophyllum* (28-33).

Los primeros síntomas en los bovinos se caracterizan por un estado de hiperexcitabilidad, pérdida de apetito, depravación del gusto y en algunos casos diarrea, produciéndose como consecuencia una pérdida apreciable de peso. Otros síntomas característicos son envaramiento, especialmente de los miembros anteriores y arqueamiento del lomo o cifosis. Estos síntomas se acentúan notablemente, llegando los animales a un estado de caquexia y muerte por debilidad general y/o complicaciones secundarias. Los datos de laboratorio muestran hipercalcemia y hiperfosfatemia. En la necropsia, las lesiones predominantes son arteriosclerosis y extensas calcificaciones de los tejidos blandos, generalmente la aorta y el endocardio son los más seriamente afectados, sin perjuicio de que también lo esté todo el sistema arterial y venoso. Se observan también frecuentes deposiciones minerales en los pulmones, tendones y ligamentos. En esos casos avanzados son notables las lesiones de desgaste y ulceración de los cartilagos articulares. Histopatológicamente, tanto en el endocardio como en los alvéolos pulmonares y en las principales arterias, se observan focos de calcificación (2,34).

Enfermedades con sintomatología similar fueron descriptas en otros países. En Brasil, se ha informado sobre un cuadro de calcinosis en bovinos conocido como "Espichamento" (35). En Hawai (Estados Unidos), la enfermedad denominada "Naalehu Disease" o "Arteriosclerosis bovina" tiene características similares al Enteque seco (36). En Jamaica, se describió en detalle los síntomas y la patología de la "Manchester Wasting Disease" la cual ha sido relacionada con el Enteque seco y la Naalehu Disease (37). En Alemania (región alpina de Baviera) y en Austria, una enfermedad llamada "Calcinosis enzoótica" ha sido asociada con la ingestión de *Trisetum flavescens* (38). El *Cestrum diurnum* causa una enfermedad calcinótica en caballos y bovinos en la Florida (Estados Unidos), clínica y morfológicamente similar a la producida por el *Solanum glaucophyllum* (39). El *Solanum torvum* podría ser el responsable de la calcinosis enzoótica en el ganado de Papúa (Nueva

Guinea) (13). En Australia, se ha detectado una enfermedad en el ganado ovino llamada "Humpy back" con síntomas que se asemejan a aquellos de la calcinosis (40). La ingestión de frutos de *Solanum esuriale* indujo la aparición del cuadro clínico en aproximadamente tres semanas (41).

Tabla 1

Plantas en las cuales se ha detectado la presencia de compuestos relacionados con la vitamina D₃ o actividad de la misma

Planta	7-dehidro-colesterol	Vitamina D ₃	25(OH)D ₃	1 α ,25(OH) ₂ D ₃
<i>Solanum glaucophyllum</i> (Solanaceae)	presente	presente	presente	presente
<i>Solanum tuberosum</i> (Solanaceae)		presente		
<i>Solanum verbascifolium</i> (Solanaceae)		actividad vitamina D		
<i>Solanum torvum</i> (Solanaceae)		actividad vitamina D		
<i>Cestrum diurnum</i> (Solanaceae)		presente	presente	presente
<i>Lycopersicon esculentum</i> (Solanaceae)		presente	presente	presente
<i>Nicotiana glauca</i> (Solanaceae)	presente	presente	presente	presente
<i>Nierembergia veitchii</i> (Solanaceae)		actividad vitamina D		
<i>Trisetum flavescens</i> (Gramineae)		presente		presente
<i>Dactylis glomerata</i> (Gramineae)		presente		
<i>Medicago sativa</i> (Leguminosae)		presente		
<i>Cucurbita pepo</i> (Cucurbitaceae)		presente		

BIBLIOGRAFÍA

1. Bills, C.E. En: *The Vitamins* (1979) W.H. Sebrell y R.S. Harris, editores. Academic Press, New York (Estados Unidos). Volumen 2, pp. 149-173.
2. Worker, N.A., Carrillo, B.J. (1967) *Nature* (London) 215: 72-74.
3. Wasserman, R.H., Henion, J.D., Haussler, M.R., McCain, T.A. (1976) *Science* 194: 853-855.
4. Peterlik, M., Bursac, K., Haussler, M.R., Hughes, M.R., Wasserman, R.H. (1976) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 70: 797-804.
5. Skliar, M.I., Boland, R.L., Mouriño, A., Tojo, G. (1992) *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 43: 677-682.
6. Curino, A., Skliar, M., Boland, R. (1998) *Biochim. Biophys. Acta* 1425: 485-492.
7. Puche, R.C., Masoni, A.M., Alloatti, D.A., Roveri, E. (1980) *Planta Med.* 40: 378-381.
8. Wasserman, R.H., Corradino, R.A., Krook, L., Hughes, M.R., Haussler, M.R. (1976) *J. Nutr.* 106: 457-465.
9. Hughes, M.R., McCain, T.A., Chang, S.Y., Haussler, M.R., Villareale, M., Wasserman, R.H. (1977) *Nature* 268: 347-349.
10. Rambeck, W., Oesterheld, W., Vecchi, M., Zucker, H. (1979) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 87: 743-749.
11. Morris, K.M.L., Levack, V.M. (1982) *Life Sci.* 30: 1255-1262.
12. Raoul, Y., Le Boulch, N., Gounelle, J.C., Marnay-Gulat, C., Ourisson, G. (1968) *FEBS Lett.* 1: 59-62.
13. Morris, K.M.L., Simonite, J.P., Pullen, L., Simpson, J.A. (1979) *Res. Vet. Sci.* 27: 264-266.
14. Rambeck, W.A., Zucker, H. (1982) *Zbl. Vet. Med. A.* 29: 289-296.
15. Horst, R.L., Reinhardt, T.A., Russell, J.R., Napoli, J.L. (1984) *Arch. Biochem. Biophys.* 231: 67-71.
16. Arbujai, T., Al-Khalil, S., Abuirjeie, M. (1998) *Phytochem.* 49: 2497-2499.
17. Prema, T.P., Raghuramulu, N. (1996) *Phytochem.* 42: 617-620.
18. Skliar, M., Curino, A., Milanesi, L., Benassati, S., Boland, R. (1999) Enviado a publicar a *Plant Science*.
19. Barros, S.S., Driemeier, D., Dos Santos, M.N., Moraña Guerrero, J.A. (1992) *Pesq. Vet. Bras.* 12: 5-10.
20. Zucker, H., Stark, H., Rambeck, W.A. (1980) *Nature* 283: 68-69.
21. Esparza, M.S., Vega, M., Boland, R.L. (1982) *Biochim. Biophys. Acta* 719: 633-640.
22. Kevers, C., Sticher, L., Penel, C., Greppin, H., Gaspar, T. (1983) *Physiol. Plant.* 57: 17-20.
23. Baniecki, J.F., Bloss, H.E. (1969) *Mycologia* 61: 1054-1059.
24. Buchala, A.J., Schmid, A. (1979) *Nature* 280: 230-231.
25. Jarvis, B.C., Booth, A. (1981) *Physiol. Plant.* 53: 213-218.
26. Vega, M.A., Boland, R.L. (1986) *Biochim. Biophys. Acta* 881: 364-374.
27. Tarres, M.C., Liborio, M.M., Juster, G., Osmetti, G., Puche, R.C. (1977) *Rev. Med. Vet.* 58: 387-397.
28. Lignieres, J. (1898) *Bull. De la Societe Centrale de Med. Vet.* XVI: 761-792.
29. Lignieres, J. (1912) *Rev. Zootecnica* 37: 1-7.
30. Molfino, R., Alonso, R., Riccitelli, J. (1955) *Rev. Fac. Agr. La Plata XXXI*: 53-80.

31. Eckell, O.A., Gallo, G.G., Martin, A.A., Portella, R.A. (1960) *Rev. Fac. Cs. Vet. La Plata* II: 193-211.
32. Camberos, H.R., Davis, G.K. (1969) *Memorias de la Asoc. Latinoam. de Prod. Anim.* 3: 31-39.
33. Bulman, G.M. (1970) *Proyección Rural* N° 25, pp. 32-33.
34. Carrillo, B.J., Worker, N.A. (1967) *Rev. Invest. Agrop. INTA, Serie 4 Pat. Anim.* IV: 9-30.
35. Dobreiner, J., Tokarnia, C.H., Da Costa, J.B.D., Campos, J.L.E., De Souxa Dayrell, M. (1971) *Pesq. Agrop. Bras., Serv. Vet.* 6: 91-117.
36. Willers, E.H., Lynd, F.T., Weight, L.A., Miyahara, A.Y. (1965) *Am. J. Vet. Res.* 26: 1350-1355.
37. Arnold, R.M. (1969) *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 1: 75-84.
38. Dirksen, G., Plank, P., Spiess, A., Hänichen, T., Dämmrich, K. (1970) *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 77: 321-338.
39. Krook, L.P., Wasserman, R.H., Shively, J.N., Tashjian, A.H., Brokken, T.K., Morton, J.F. (1975) *Cornell Vet.* 65: 25-26.
40. O'Sullivan, B.M. (1976) *Aust. Vet. J.* 52: 414-418.
41. McMeniman, N.P. (1975) *Aust. Vet. J.* 52: 432-433.