

El granado (*Punica granatum* L.); un árbol ancestral con efecto analgésico y antinociceptivo

The pomegranate (*Punica granatum* L.); an ancient tree with analgesic and antinociceptive effect

José A. Guerrero-Solano ^a, Tania Flores-Bazán ^b

Abstract:

Currently, alternative medicine is enjoying an unprecedented boom due to the search for new therapies that support or replace medications that usually cause adverse effects. In this context, the pomegranate (*Punica granatum* L.) is popular in traditional medicine to treat different types of pain, however, this knowledge is empirical, so this article shows the contributions and scientific evidence found on this effect, trying to delve into how and why it is given. Different parts of the pomegranate were found to show antinociceptive (in preclinical or animal models) and analgesic (in humans) effects. The actual evidence indicates that this effect is given due to the presence of polyphenols, alkaloids and fatty acids. It is suggested that the mechanisms of action may be related to the activation of the nitric oxide pathway and the opioid system. There is a great future for drug/pomegranate combination treatments. The results propose that pomegranate and its secondary metabolites could be considered in the treatment of inflammatory, nociceptive and neuropathic pain.

Keywords:

Pomegranate, analgesic effect, pain, antinociceptive effect

Resumen:

Actualmente, la medicina alternativa goza de un auge sin precedentes debido a la búsqueda de nuevas terapias que coadyuven o sustituyan a los medicamentos que, de manera habitual generan efectos adversos. En este contexto, el granado (*Punica granatum* L.) es popular en la medicina tradicional para tratar diferentes tipos de dolor, sin embargo, dicho conocimiento es empírico, por lo que el presente artículo de divulgación muestra los aportes y evidencias científicas encontradas sobre este efecto, tratando de profundizar en el cómo y por qué es dado el mismo. Se encontró que diferentes partes de la granada mostraron un efecto antinociceptivo (en modelos preclínicos o animales) y analgésico (en humanos). La evidencia al momento apunta a que este efecto se debe a la presencia de polifenoles, alcaloides y ácidos grasos. Se sugiere que los mecanismos de acción pueden estar relacionados con la activación de la vía del óxido nítrico y el sistema opioide. Existe un gran futuro para los tratamientos en combinación medicamento/granada. Los resultados proponen que la granada y sus metabolitos secundarios podrían considerarse en el tratamiento del dolor inflamatorio, nociceptivo y neuropático.

Palabras Clave:

Granada, efecto analgésico, dolor, efecto antinociceptivo

Introducción

El granado (*Punica granatum* L.), es un cultivo ancestral perteneciente a la familia Punicaceae (nombre derivado de los fenicios, quienes fueron difusores activos de su cultivo) [[Botti, 2002 #31]1]. Este árbol es de la región conocida como oriente medio, en el actual Irán y sus alrededores, y existen registros históricos en donde se sabe que culturas

milenarios como los babilonios, griegos, hebreos, persas y chinos la consumieron y vieron a su fruto con apreciación y simbolismo [2].

El ser humano ha utilizado este cultivo principalmente para alimentarse de sus frutos, sin embargo, tanto el fruto como otras partes del árbol (raíz, hojas, flores), han sido utilizadas como medicina tradicional en muchas culturas del mundo,

^a *Autor de Correspondencia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, <https://orcid.org/0000-0002-9331-9509>, Email: jose_guerrero@uaeh.edu.mx

^b Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, <https://orcid.org/0000-0001-5797-7718>, Email: tanibaz@outlook.com

debido a sus efectos benéficos a la salud. Raíces, hojas, fruto y flores de granada actúan como agentes desparasitante, antimicrobiano, antihipertensivo, antiaterosclerótico, hipoglucemiante, para la salud bucal, antiinflamatorio y para el dolor entre otros. Este último efecto es en el cual nos centraremos en la presente divulgación [3].

Para poder entenderlo es necesario mencionar algunos puntos acerca del dolor; el dolor es definido como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con un daño actual o potencial y descrito en términos de dicho daño [4]. El proceso neurológico que desencadena el dolor se llama nocicepción, nombre obtenido de células neuronales distribuidas por todo el cuerpo, especialmente en la piel, clasificadas como neuronas periféricas y denominadas nociceptores; estos son activados en respuesta a un estímulo doloroso (mecánico, químico o térmico) [5] y conducen la señal al cerebro. La clasificación más aceptada del dolor es la dada por Woolf y esta se divide en cuatro tipos, de acuerdo a su mecanismo neurofisiológico. 1) Dolor nociceptivo; un dolor transitorio en respuesta a un estímulo nocivo, 2) Dolor inflamatorio; una hipersensibilidad espontánea al dolor en respuesta al daño tisular y la inflamación, 3) Dolor neuropático; un dolor espontáneo e hipersensibilidad al dolor en asociación con daño o lesión al sistema nervioso y 4) Dolor funcional; hipersensibilidad al dolor resultante de un procesamiento central anormal [6]. A pesar de la existencia de una amplia variedad de opciones terapéuticas utilizadas para el tratamiento del dolor, este continúa siendo la principal causa de consulta médica y se encuentra en la lista de enfermedades de atención prioritaria de la Organización Mundial de la Salud (OMS) [7]. Según los últimos datos encontrados, la prevalencia de dolor crónico fluctúa entre el 11 y el 40 % de la población, de los cuales hasta el 10 % refiere padecer dolor grave [8,9]. El dolor trae consigo una serie de comorbilidades que terminan afectando por completo la calidad de vida, y convirtiéndose “per se” en una enfermedad incapacitante. La presente divulgación se centra en dar a conocer el efecto analgésico y antinociceptivo del árbol del granado.

Modelos preclínicos para el estudio del dolor en granada

Cuando el dolor se estudia en animales se utiliza el término “antinocicepción”, debido a que se estudian conductas nociceptivas como el número de contracciones abdominales o sacudidas de pata; el animal no puede expresar con palabras o discriminar

en una escala la cantidad de dolor, por ello se omite decir efecto analgésico en modelos animales. En el caso de seres humanos, se utiliza la palabra analgesia para discriminar el efecto reductor de dolor.

En este contexto y para poder entender cómo se ha determinado el efecto antinociceptivo del granado, revisaremos algunos modelos preclínicos de estudio del dolor. Por aspectos éticos, en la actualidad la mayoría de los estudios de dolor son llevados a cabo en animales (ratas o ratones), entendiéndose que también existen rigurosos lineamientos éticos para el estudio del dolor en ellos, y estos no pueden ser conducidos sin previa autorización de un comité de ética animal.

En dichos modelos se genera un dolor controlado para poder estudiar el efecto de fármacos, compuestos naturales, entre otros agentes con sospecha de efecto analgésico. A continuación se enlistan los modelos más utilizados [10-15].

Prueba de formalina

Después de la administración del fármaco a estudiar, se inyecta formalina (formaldehído al 1-5%) en la superficie dorsal de una pata trasera (ipsilateral) de ratas o ratones (Figura 1). Esto genera dolor por irritación química y se mide el tiempo que el animal pasó lamiendo, mordiendo o sacudiendo la pata durante una hora. Con esta prueba se miden dos tipos de dolor: de 0 a 15 minutos es la fase 1- dolor nociceptivo y de 15 a 60 minutos la fase 2- dolor inflamatorio.

Prueba de contorsiones (writhing)

Esta prueba es llevada a cabo en ratones y evalúa el dolor visceral (inflamatorio). Después de la administración del fármaco a evaluar, la antinocicepción se evalúa contando el número de contorsiones tras la administración intraperitoneal de agentes irritantes (como ácido acético al 0,6%) durante tres periodos de 10 min. Una contorsión se define como la constricción abdominal y el estiramiento de al menos una extremidad trasera.

Prueba de movimiento rápido de cola (tail - flick)

La prueba del movimiento rápido de cola se lleva a cabo en ratas y utiliza un equipo en el que un pequeño termopar entra en contacto con la superficie dorsal de la cola cerca del estímulo de calor radiante. Se utiliza un sistema informático para programar la temperatura y registrar la latencia de la cola en relación con el tiempo que tarda en mover la

extremidad después de la administración del fármaco a evaluar.

Prueba de la placa caliente (hot – plate)

En la prueba clásica de la placa caliente se evalúa el dolor nociceptivo, los ratones o ratas (generalmente ratas). Después de administrar el fármaco a evaluar, se coloca a las ratas en una placa de metal con inducción térmica, al aumentar el calor los animales reaccionan lamiéndose las patas, saltando o haciendo ambas cosas, y se mide el número de reacciones en un período de tiempo. El tiempo de latencia se mide desde que el animal se coloca en la superficie de la placa calefactora hasta el momento en que el animal se lame la pata o salta para evitar el dolor térmico.

Prueba de inmersión de cola (tail immersion)

En la prueba de inmersión de la cola (rata), se evalúa el dolor nociceptivo. La latencia de referencia es el tiempo que transcurre desde la inmersión de la cola en agua tibia (47 °C) hasta la aparición del movimiento de la cola, la vocalización o la lucha como respuesta nociceptiva.

Prueba de dolor corneal

En este modelo evalúa dolor nociceptivo, se induce la nocicepción corneal aguda en rata (1 hora después de administrar el fármaco a estudiar), con una gota de un irritante (normalmente NaCl 5 M) en la superficie de la córnea y se mide el número de parpadeos oculares durante 30 s.

Adyuvante completo de Freund (Complete Freund's Adjuvant)

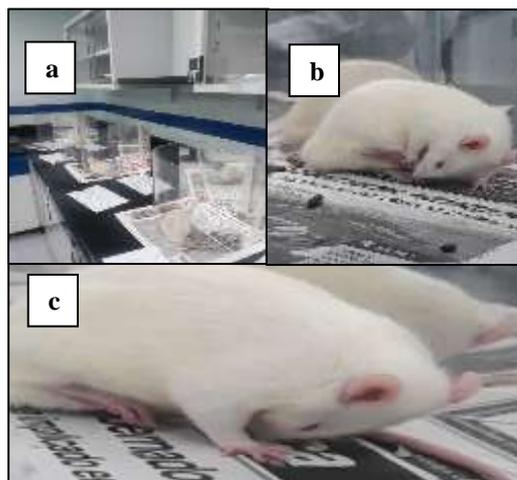
Se trata de una solución de antígeno emulsionado en aceite mineral y micobacterias secas inactivadas. Esta estimula la inmunidad mediada por células y conduce a la potenciación de las células T auxiliares que producen células T efectoras e inmunoglobulinas. Se utiliza exclusivamente en la investigación con animales, debido a su reacción dolorosa y potencial de daño tisular. Se administra en la pata con una inyección subcutánea de 0,5 ml en ratas. Evalúa dolor inflamatorio.

Inducción de neuropatía diabética

Se ha reportado que luego de seis semanas de inducción de diabetes con aloxano (180 mg/kg i.p.) cada 48 h, tres veces, ratones o ratas generan neuropatía diabética, corroborado por pruebas de hiperalgesia y alodinia, induciendo un modelo de dolor neuropático.

Transección del nervio tibial y sural

Este modelo evalúa el dolor neuropático. Las ratas se anestesiaron, se hace una incisión en el muslo y se hace un corte directamente a través del músculo bíceps femoral para exponer el nervio ciático y sus tres ramas terminales, dos de las cuales se ligan y se



cortan (tibial y sural) (Figura 2). El músculo y la piel se cierran y con el tiempo se prueba la hiperalgesia y la alodinia para corroborar la neuropatía y evaluar conducta nociceptiva.

Figura 1. Prueba de formalina en rata Wistar
a. Se puede apreciar una mesa de trabajo con cilindros de acrílico en donde son colocadas las ratas después de la inyección de formalina para evaluar la conducta nociceptiva (sacudidas, lamidas de pata). b. Se observa la típica conducta de lamida de pata como respuesta al estímulo doloroso. c. Una contracción de pata con rictus facial y erizamiento secundario al estímulo nociceptivo. Fuente: Elaboración propia a partir de archivo personal.

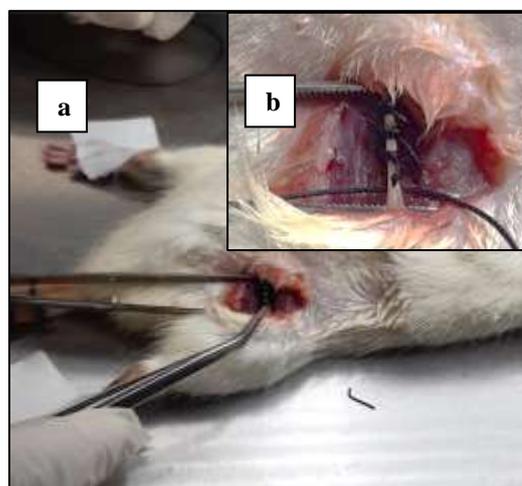


Figura 2. Modelo de transección del nervio tibial y sural.

a. Se aprecia una cirugía mayor con ligadura de nervio ciático expuesto. b. Aumento de lente donde se observan cuatro ligaduras en el nervio ciático para generar dolor neuropático. Fuente: Elaboración propia a partir de archivo personal.

Efecto analgésico y antinociceptivo del granado

Se encontraron un promedio de 30 estudios en donde se ha reportado que existe evidencia del efecto antinociceptivo de la granada (Figura 3) en los modelos animales anteriormente descritos, demostrando, en cierta medida, que su uso en la medicina tradicional como infusiones o extractos para el dolor, tiene respaldo científico [3]. Se han realizado estudios en extractos de la fruta entera, la cáscara de la fruta, el jugo y las semillas (en combinación), las hojas y las flores. Asimismo, existen publicaciones donde se evalúa el efecto del ácido elálgico, que es un compuesto abundante en la granada en la prueba de formalina y contorsiones [16], y al que algunos autores atribuyen el efecto antinociceptivo. Según los datos obtenidos, la mayoría de los extractos utilizados son de naturaleza polar, siendo el metanol y el etanol los disolventes mayoritariamente utilizados. Esto puede deberse a la naturaleza de los compuestos que probablemente sean responsables del efecto (los polifenoles y los flavonoides son polares). Por lo tanto, asumimos que los autores eligen los solventes porque pueden extraerlos de mejor manera. Las dosis utilizadas en los estudios variaron de 10 a 3000 mg/kg, con una media de 123,8 mg/kg. En general, se determinó que 100 mg/kg son suficientes para que el Índice de Inhibición del Dolor (IIP) fuera efectivo, encontrando una respuesta antinociceptiva dependiente de la dosis en todos los casos (esto quiere decir que a mayor dosis, mayor respuesta, o al contrario, a menor dosis, menor respuesta). El IIP más alto se encontró a 3000 mg/kg de peso en la prueba de contorsiones (writhing). Cabe señalar que en la mayoría de los casos el efecto de los extractos fue comparable al de su fármaco de referencia. En los estudios del efecto antinociceptivo encontrados, el fármaco de referencia más utilizado fue la morfina. Si bien ninguno de los extractos de granada evaluados, igualó la potencia y eficacia de la morfina, algunos extractos sí estuvieron cerca de igualar el efecto antinociceptivo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) como el ácido acetilsalicílico o el ketarolaco a dosis similares de los extractos. Las partes de la granada con menor actividad antinociceptiva fueron las hojas y las flores; sin embargo, se necesitan más datos pues sólo se encontraron tres estudios. Por otro lado, la parte con mayor efecto antinociceptivo es la cáscara del fruto, hecho de gran relevancia ya que la cáscara es considerada un producto de desecho para la industria alimentaria, y al tener este efecto se le puede dar plusvalía al subproducto. En este sentido, Quachrif et al. [17] estudiaron el efecto del extracto

de dos variedades diferentes de cáscara de granada de Marruecos (Amrouz y Sefri), la primera variedad era utilizada solo por herbolarios y la segunda es una variedad de consumo actual. Los resultados mostraron que ambas variedades tienen un buen efecto antinociceptivo, siendo Sefri la de mayor efecto en la prueba de formalina, Amrouz en la prueba de contorsiones e inmersión de cola, y en la prueba de placa caliente, no hubo diferencias. Estos modelos confirman la actividad central y periférica de la cáscara de granada; la variedad Amrouz tuvo un mayor efecto antinociceptivo en la mayoría de las pruebas siendo más potente que Sefri. Este comportamiento puede estar relacionado con el contenido de polifenoles y ácidos orgánicos libres de cada variedad. Finalmente, se piensa que este efecto puede ser una sinergia entre varios compuestos presentes en la granada, que también han sido estudiados de forma aislada y reportados como antinociceptivos.



Figura 3. Fruto del granado en estado de madurez comercial. En medicina tradicional se ha usado a lo largo de milenios, y recientemente, se ha descubierto que la cáscara posee buena actividad antinociceptiva, sobre todo en el dolor inflamatorio. Fuente: Elaboración propia a partir de archivo personal.

Efecto en combinación con fármacos

El estudio de las interacciones fármaco-planta en el dolor se ha incrementado en los últimos años, buscando una mayor eficacia del fármaco y reducción de los efectos secundarios. En un estudio propio se evaluó la antinocicepción inducida por la coadministración intragástrica de la combinación de extracto de cáscara de granada y ácido acetilsalicílico. La combinación se evaluó mediante un análisis isoblográfico (modelo matemático para determinar si existe sinergismo, antagonismo o simplemente aditividad) en la prueba de formalina. A partir de curvas dosis-respuesta se calculó la dosis efectiva que produjo el 30% de antinocicepción, para

ambos, extracto de cáscara y ácido acetilsalicílico, generándose posteriormente una curva con la combinación en proporciones fijas (1:1). En el isoblograma está dosis efectiva 30 experimental se comparó con la dosis efectiva 30 teórica calculada. El resultado fue una interacción sinérgica con diferencia significativa ($p < 0,05$). Así mismo, se determinó que el mecanismo antinociceptivo de la combinación involucra la vía del óxido nítrico (uno de los moduladores del dolor). Estos hallazgos sugieren que una interacción entre granada y ácido acetilsalicílico podría ser un tratamiento novedoso para el dolor inflamatorio y nociceptivo, además de disminuir las reacciones secundarias del medicamento [18]. Se requieren más estudios para determinar el efecto con otros fármacos.

Conclusiones

El árbol del granado es importante a nivel mundial. En modelos preclínicos de dolor se ha encontrado efecto antinociceptivo de partes del árbol, especialmente la cáscara de la fruta, misma que puede ser utilizada como analgésico, sin embargo, se requieren más estudios para poder llegar a un consenso en la dosis terapéutica en humanos y su posible uso en combinación con fármacos.

Referencias

- [1] Botti C, Prat L, Carrasco O, Loannidis D, Franck N, Osses D. El Granado (*Punica granatum* L.). Agronómicas SC, editor. Santiago de Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas U de Chile; 2002. 50-6 p.
- [2] Stover E, Mercure EW. The pomegranate: a new look at the fruit of paradise. *HortScience*. 2007;42(5):1088-92.
- [3] Guerrero-Solano JA, Jaramillo-Morales OA, Velázquez-González C, la O-Arciniega D, Castañeda-Ovando A, Betanzos-Cabrera G, et al. Pomegranate as a Potential Alternative of Pain Management: A Review. *Plants*. 2020;9(4):419.
- [4] IASP. Classification of Chronic Pain, Second Edition (Revised): International Association for the Study of Pain; 2012 [cited 2020 28/01/2020]. Available from: <https://www.iasp-pain.org/PublicationsNews/Content.aspx?ItemNumber=1673&navItemNumber=677>.
- [5] Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*. 2012;211:39-50.
- [6] Woolf CJ. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Annals of internal medicine*. 2004;140(6):441-51.
- [7] Kaplan W, Wirtz VJ, Mantel-Teeuwisse A. Priority Diseases and Reasons for Inclusion (6.23. Low back pain). Priority medicines for Europe and the World 2013 update. Geneva: WHO; 2018.
- [8] Borsook D. A future without chronic pain: neuroscience and clinical research. *Cerebrum*. 2012;7-. PubMed PMID: 23447793. Epub 06/27. eng.
- [9] Jiang C, Wang H, Wang Q, Luo Y, Sidlow R, Han X. Prevalence of Chronic Pain and High-Impact Chronic Pain in Cancer Survivors in the United States. *JAMA oncology*. 2019.
- [10] Gould III HJ, England JD, Liu Z, Levinson SR. Rapid sodium channel augmentation in response to inflammation induced by complete Freund's adjuvant. *Brain research*. 1998;802(1-2):69-74.
- [11] Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *Journal of neuroscience methods*. 1985;14(1):69-76.
- [12] Jain V, Pareek A, Bhardwaj YR, Singh N. Attenuating effect of standardized fruit extract of *punica granatum* L in rat model of tibial and sural nerve transection induced neuropathic pain. *BMC complementary and alternative medicine*. 2013;13(1):274
- [13] Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*. 2001;53(4):597-652
- [14] Moghaddam G, Sharifzadeh M, Hassanzadeh G, Khanavi M, Hajimahmoodi M. Anti-ulcerogenic activity of the pomegranate peel (*Punica granatum*) methanol extract. *Food and Nutrition Sciences*. 2013;4(10):43.
- [15] Raafat K, Samy W. Amelioration of diabetes and painful diabetic neuropathy by *Punica granatum* L. Extract and its spray dried biopolymeric dispersions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014;2014:1-12.
- [16] Wang R, Ding Y, Liu R, Xiang L, Du L. Pomegranate: constituents, bioactivities and pharmacokinetics. *Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology*. 2010;4(2):77-87.
- [17] Ouachrif A, Khalki H, Chaib S, Mountassir M, Aboufatima R, Farouk L, et al. Comparative study of the anti-inflammatory and antinociceptive effects of two varieties of *Punica granatum*. *Pharmaceutical biology*. 2012;50(4):429-38.
- [18] Guerrero-Solano JA, Bautista M, Velázquez-González C, la O-Arciniega D, González-Olivares LG, Fernández-Moya M, et al. Antinociceptive Synergism of Pomegranate Peel Extract and Acetylsalicylic Acid in an Animal Pain Model. *Molecules*. 2021;26(18):5434.