

Actividad hemolítica de *Euphorbiaceae*

Mex-Alvarez, Rafael Manuel de Jesús, Maldonado-Velázquez, María Guadalupe, Yanez-Nava, David, Guillen-Morales, María Magali, Cardos-Burgos, Eduardo G.

^aUniversidad Autónoma de Campeche, Campus V Av. Humberto Lanz Cárdenas, San Francisco de Campeche, México

*E-mail de autor responsable: rafammex@uacam.mx

Palabras clave: saponinas, antimicrobiano, citotóxico.

Introducción

El eritrocito humano maduro es una célula simple, su relativa simplicidad estructural y funcional y la presencia de una bicapa lipídica semejante al resto de células humanas permiten estudiarlo como un modelo para ensayar sustancias que podrían afectar la estabilidad de la membrana biológica^{3,5}. El ensayo de hemólisis se emplea para evaluar la actividad citotóxica de sustancias que afectan a la membrana, pues la disrupción de ésta supone la liberación del contenido celular (hemoglobina) que puede ser monitoreado por cuantificación espectrofotométrica^{2,4}. La familia *Euphorbiaceae* es una de las más extensas de las Angiospermas (300 géneros y 5,000 especies); se le ha atribuido efectos curativos en la medicina tradicional mexicana y destaca su uso como drogas anticancerígenas y antimicrobianas, todos ellos relacionados con un potencial citotóxico. Por ello surgió el interés de evaluar la actividad hemolítica de *Euphorbiaceae* como ensayo preliminar para determinar su potencial como agentes citotóxicos¹.

Metodología

Las plantas se colectaron en la ciudad de Campeche (México) de enero a febrero de 2020. El material vegetal se lavó y secó en estufa eléctrica a 40 °C y luego el material vegetal se trituró en molino eléctrico para obtener el polvo que se extrajo con etanol al 70% por maceración a temperatura ambiente. Se filtró el extracto obtenido y se le determinó los sólidos totales por gravimetría. En la tabla 1 se transcribe las plantas y sus partes vegetales que se colectaron y estudiaron para determinar su actividad hemolítica.

Tabla 1. Relación de Extractos estudiados.

| Planta | Parte estudiada |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Ricinus communis</i> | Hoja, fruto |
| <i>Euphorbia pulcherrima</i> | Hoja, hoja modificada, flor, resina |
| <i>Acalypha hispida</i> | Hoja, flor |
| <i>Euphorbia milii</i> | Hoja, tallo, flor, resina |
| <i>Jatropha gaueri</i> | Hoja, resina |
| <i>Cnidoscolus chayamansa</i> | Hoja, tallo |
| <i>Phyllanthus acidus</i> | Hoja, pulpa, semilla |
| <i>Manihot esculenta</i> | Hoja, tallo |

La actividad hemolítica se evaluó con dos técnicas; la primera fue en agar sangre (eritrocitos 5%, agar 2%) en cajas de petri al cuál se horadó con una pipeta pasteur estéril para hacer pozos de 6 mm de diámetro donde se depositó 50 µL del extracto vegetal de concentración 1000 ppm; se dejó en incubación las placas durante 24 horas a 37 °C en incubadora eléctrica y posteriormente se determinó el halo de hemólisis en los extractos que presentaron actividad hemolítica. El segundo método fue medir la actividad hemolítica espectrofotométricamente; para ello se preparó una suspensión de eritrocitos al 1% y se depositó 1.00 mL de la suspensión eritrocitaria en un microtubo y se le adicionó 100 µL del extracto a concentración 1000 ppm (en PBS), se incubó a 37 °C durante 30 min y luego se centrifugó a 3,000 rpm durante 10

min. Se midió la absorbancia del sobrenadante a 540 nm; se realizó una curva de calibración de la hemólisis lisando los eritrocitos con agua destilada y agitando en un vórtex durante 5 minutos. En ambas pruebas se usó como control positivo el detergente tritón X100 al 0.1%. La sangre fue obtenida de voluntarios sanos, grupo O Rh Positivo, y se lavó con solución salina 0.85% estéril, tres veces y finalmente se lavó y se resuspendió con PBS (pH=7.4).

Resultados y discusión

En la tabla 2 se reporta la relación de los extractos que dieron positivo.

Tabla 2. Extractos que dieron positivo la actividad hemolítica.

| Extracto | Placa | Tubo (Abs) |
|---------------------------------------|-------|------------|
| Hoja <i>R. communis</i> | 4 | 1.238 |
| Fruto <i>R. communis</i> | 1 | 0.167 |
| Hoja modificada <i>E. pulcherrima</i> | 1 | 0.257 |
| Resina <i>E. pulcherrima</i> | 1 | 0.131 |
| Hoja <i>A. hispida</i> | 4 | 1.413 |
| Flor <i>A. hispida</i> | 3 | 0.720 |
| Hoja <i>E. milii</i> | 1 | 0.153 |
| Flor <i>E. milii</i> | 1 | 0.118 |
| Hoja <i>M. esculenta</i> | 4 | 1.235 |
| Hoja <i>J. gaueri</i> | 4 | 2.014 |
| Pulpa <i>P. acidus</i> | 2 | 0.750 |

Los números reflejan el tamaño del halo: 1 entre 6-9 mm, 2 entre 10 y 12 mm, 3 entre 12 y 15, 4 mayor de 15 mm

Conclusiones

Cuatro de las especies de *Euphorbiaceae* estudiadas (*E. pulcherrima*, *A. hispida*, *M. esculenta* y *P. acidus*) son potencialmente útiles para continuar con los estudios de acción citotóxica. Las hojas fueron la parte vegetal que contenía metabolitos hemolíticos.

Referencias

- Bittner, M., Alarcón, Aqueveque, J., Becerra, P., Hernández, J., Hoeneisen, V., Honeisen M., Silva, M. (2001). Estudio químico de especies de la familia *Euphorbiaceae* en Chile. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 46 (4): 419-431.
- Duran, M., Montero, P.M., Marrugo, Y. (2012). Interacción de los extractos de corteza de guayaba (*Psidium guajaba*) y Mango (*Mangifera indica* L) en eritrocitos. *Vitae*, 19 (1): S325-S327.
- Hernández Carvajal, J.E., Luengas Caicedo, P.E., Otero Jiménez, V., Garavito Cárdenas, G. (2014). Actividad antiplasmódica y hemolítica de extractos etanólicos y fracciones obtenidas de *Cecropia membranacea* Trecul y *Cecropia metensis* Cuatrec. (sin. *Cecropia peltata* var. *Candida* Velásquez). *Revista cubana de Medicina Tropical*, 66 (1): 58-70.
- López, L., Fariñas, M., Amaro, M.E. (2011). Evaluación de la actividad hemaglutinante y hemolítica de las esponjas marinas *Niphates erecta* (Duchassaing y Michelotti, 1864) y *Callyspongia vaginalis* (Lamarck, 1814). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 23 (2): 113-119.
- Martínez, M., Mancuello, C., Pereira Sühsner, C.D., González, F. (2013). Estudio espectrofotométrico de la actividad hemolítica del extracto crudo de *Phoradendron batryorctum* Eichler sobre eritrocitos humanos. *Steviana*, 5: 114-12