

Actividad inmunomoduladora del extracto de hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. “pájaro bobo” sobre linfocitos de *Cavia porcellus*

Carmen R. Silva Correa, Anabel D. González Siccha, Segundo G. Ruiz Reyes, César D. Gamarra Sánchez

Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo, Perú

Recibido 14 de junio del 2019, Revisado el 4 de julio de 2019

Aceptado el 10 de julio de 2019

DOI: <https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2019.0003/>

Resumen

Determinar la actividad inmunomoduladora del extracto etanólico de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav sobre la respuesta linfocitaria de *Cavia porcellus*. Material y Método: Hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. recolectadas en la ribera del río Chamán, provincia de Chepén, departamento de La Libertad. Animal de experimentación: *Cavia porcellus* machos de 5 meses de edad con un peso promedio de 350 - 400 g, que fueron acondicionados en el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en ambientes controlados de luz y temperatura, con agua y comida ad libitum. La planta medicinal se clasificó en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo con el Código N° 54937 – HUT. El extracto etanólico de hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. presenta metabolitos secundarios como: compuestos fenólicos, taninos y flavonoides; esto se debe a que los compuestos fenólicos por lo general están unidos a restos de azúcares, lo cual lo hace soluble en solventes polares, tales como agua, metanol y etanol. También se identificó terpenos, esteroides, cumarinas y lactonas. El porcentaje promedio de linfocitos en los cultivos corresponde: para el grupo control de 25 %, siendo éste menor en comparación con los valores promedio encontrados en los grupos tratados con el extracto etanólico de hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav, demostrando que produce un aumento estadísticamente significativo de linfocitos en relación a la dosis creciente del extracto ($p < 0.05$), este efecto se le atribuye a los metabolitos secundarios presentes en la planta entre ellos los flavonoides. Por lo tanto, se concluye que el extracto etanólico de *Tessaria integrifolia* R. et P. produce un aumento de la respuesta linfocitaria en *Cavia porcellus*.

Descriptor: *Inmunomodulador, Tessaria integrifolia, linfocitos, flavonoides, respuesta linfocitaria.*

Abstract

To determine the immunomodulatory activity of the ethanolic extract of *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav on the lymphocyte response of *Cavia porcellus*. Material and Method: Leaves of *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. collected on the banks of the river Chamán, province of Chepén, department of La Libertad. Experimental animal: *Cavia porcellus* males of 5 months of age with an average weight of 350 - 400 g, which were conditioned in the bioterium of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry in controlled environments of light and temperature, with water and food ad libitum. The medicinal plant was classified in the Herbarium Truxillense of the National University of Trujillo with the Code N ° 54937 - HUT. The ethanolic leaf extract of *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. presents secondary metabolites such as: phenolic compounds, tannins and flavonoids; This is because the phenolic compounds are usually bound to sugar residues, which makes it soluble in polar solvents, such as water, methanol and ethanol. Terpenes, sterols, coumarins and lactones were also identified. The average percentage of lymphocytes in the crops corresponds to: for the control group of 25%, this being lower in comparison with the average values found in the groups treated with the ethanolic extract of leaves of *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav, demonstrating that it produces an increase statistically significant of lymphocytes in relation to the increasing dose of the extract ($p < 0.05$), this effect is attributed to the secondary metabolites

present in the plant, among them the flavonoids. Therefore, it is concluded that the ethanolic extract of *Tessaria integrifolia* R. et P. produces an increase in the lymphocyte response in *Cavia porcellus*.

Keywords: *Immunomodulator, Tessaria integrifolia, lymphocytes, flavonoids, lymphocyte response.*

1. Introducción

El sistema inmune es el conjunto de estructuras y procesos biológicos en el interior de un organismo que lo protegen contra enfermedades, el que identifica y elimina células patógenas y cancerosas. Entre las respuestas del sistema inmune se distinguen la inmunidad innata y la adaptativa que son las encargadas de defender al huésped, en la que funcionan numerosas células y moléculas de modo conjunto [1].

Algunos, moléculas en la defensa son innatos, están presentes desde el nacimiento y no dependen de la presencia de antígenos. Otros son adquiridos y se encuentran en pequeñas cantidades antes de un estímulo antigénico [2].

Las células que intervienen en las respuestas inmunitarias se encuentran presentes en la sangre y tejidos, mientras que otros normalmente sólo en los tejidos. Ellos son: macrófagos, polimorfonucleares (PMN) que actúan en defensa del organismo del hombre cuando son invadidos por agentes extraños, mientras que los linfocitos se encargan del mecanismo específico de la respuesta inmunológica [3].

Los linfocitos son las únicas células capaces de reconocer antígenos de manera específica y, por tanto, constituyen los principales componentes de la inmunidad adaptativa. Estos linfocitos responden mediante su proliferación y diferenciación en células efectoras, cuya función consiste en eliminar el antígeno y en células de memoria que manifiestan una respuesta mayor tras su encuentro posterior con el antígeno [4].

Entre las pruebas que determinan esta hipersensibilidad, tenemos: prueba cutánea, determinación del factor inhibidor de macrófagos, determinación del factor inhibidor de los leucocitos, citotoxicidad de los linfocitos, determinación de los receptores de activación expresados en la membrana de los linfocitos activados y la transformación linfoblástica de los linfocitos mediante criterio morfológico o con timidina tritiada [2].

La prueba de transformación linfoblástica se ha empleado en investigaciones clínicas y

experimentales para estudiar el efecto en los linfocitos.

Las plantas medicinales en la actualidad son un recurso valioso para los sistemas de salud y en especial para los países en desarrollo [5]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que un 80 % de la población mundial utiliza la medicina tradicional como parte de la atención primaria de sus necesidades de salud, donde una gran mayoría de los tratamientos tradicionales incluye el uso de extractos vegetales o sus principios activos. Según la OMS, una planta medicinal es aquella que, en uno o más de sus órganos, contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o preventivos o que son precursores para la semi-síntesis químico-farmacéutica. [6].

Los productos naturales constituyen una gran fuente de compuestos capaces de modular algunos mediadores o mecanismos de la respuesta inmune. Entre los compuestos de origen natural con propiedades inmunomoduladoras podemos citar a los polifenoles, alcaloides, quinonas, terpenoides, esteroides, polisacáridos, glicoproteínas, entre otros [7].

Se ha reportado que algunos extractos naturales presentan propiedades inmunomoduladoras, promoviendo la utilización de estos para el tratamiento complementario de enfermedades relacionadas con alteraciones inmunopatológicas.

González-Siccha, ha reportado que el extracto obtenido de una Brassica, presenta efecto inmunomodulador por sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes porque incrementa el título de anticuerpos y los linfocitos, atribuyendo este efecto a los flavonoides kaempferol y quercetina que parecen actuar de forma sinérgica [8].

Quiñones et al, demostraron que los polifenoles, y especialmente la quercetina, inhiben la COX y la LPO, enzimas implicadas en la liberación de factores tales como interleuquinas y quimosinas producido por el estrés oxidativo por lo que los flavonoides pueden ser una fuente importante de compuestos inmunomoduladores novedosos [9].

En nuestro país, se encuentra la especie *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. “pájaro bobo”, perteneciente a la familia de las Asteraceae, es un arbusto de 3 a 10 metros de alto, que crece en la ribera de los ríos, acequias y canales de regadío, invadiendo los cultivos y comportándose como maleza, y se encuentra ampliamente distribuida desde el Sur de América Central hasta América del Sur [10].

En la parte aérea y la raíz de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. se ha encontrado metabolitos como: escualeno, acetato de β -amirino, derivados del bistienilo, α -tertienilo, lignanos, sesquiterpenos, flavonas, derivados de eudesmanos y ácido cafeoilquínico. Dentro de uso tradicional, se menciona que es antiasmático, antipirético, antiinflamatorio, diurético, analgésico, antiespasmódico y leishmanicida [11].

Sin embargo, los mecanismos de acción sobre el efecto inmunomodulador aún no están aún bien comprendidos por los investigadores.

Problema:

¿Cuál es la actividad inmunomoduladora el extracto de hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. “pájaro bobo” sobre linfocitos de *Cavia porcellus*?

Objetivos

- 1) Obtener e identificar los metabolitos del extracto etanólico de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav.
- 2) Determinar la actividad inmunomoduladora del extracto etanólico de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav sobre la respuesta linfocitaria de *Cavia porcellus*.

2. Material y Método

2.1 Material biológico

Hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. (Asteraceae) “pájaro bobo” (5 kg) recolectadas en la ribera del río Chamán, provincia de Chepén, departamento de La Libertad [12]

Cavia porcellus “cuyes” (10 especímenes) machos de 5 meses de edad con un peso promedio de 350 - 400 g, que fueron acondicionados en el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en ambientes controlados de luz y temperatura, con agua y comida ad libitum.

2.2 Recolección de la especie vegetal

Se recolectaron las hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. “pájaro bobo” en la ribera del río Chamán, ciudad de Chepén, provincia de Chepén. Departamento de La Libertad (Altitud: 135 msnm, Latitud: 07° 13' 36", Longitud: 79° 25' 45").

2.3 Selección e identificación taxonómica

La planta medicinal se clasificó en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo con el Código N° 54937 – HUT.

2.4 Preparación del extracto etanólico de las hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav.

Se utilizó 100 g de hojas secas y molidas que se colocó en un recipiente de vidrio color ámbar con capacidad suficiente para agregar 1L de alcohol 96°, se dejó macerar 7 días, luego se concentró en rotavapor Heidolph® a 37 °C y 110 mbar de presión constante y en estufa a 40 °C hasta obtención de extracto seco.

2.5 Análisis fitoquímico preliminar

Se realizó según las técnicas descrita por Matos, 2009 [13] y Lock, 1994 [14].

2.6 Aislamiento de los linfocitos y administración de tratamientos.

Se extrajo por punción cardiaca 3mL de sangre de cada espécimen, se utilizó como anticoagulante EDTA al 10 %, la sangre extraída se trasvasó a tubos que contenían 3 mL de Histopaque.

Se llevó a centrifugación a 1200 r.p.m. por 30 minutos, se eliminó el sobrenadante, y se extrajo la interfase que presentó un color blanco opaco, se colocó sobre láminas portaobjetos colocadas dentro de cámaras de cultivo, se le añadió 1,5 ml medio de cultivo esencial mínimo (MEM) con suero fetal bovino al 10 %, 2 mL gentamicina y el extracto de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. a dosis de 5, 10, 25, 50 μ g/mL luego se llevó a incubar a 37 °C durante 72 horas.

Se realizó frotis con tinción Wright a fin de contar los linfocitos mediante lectura en microscopio con lente de inmersión [8].

Se preparó un grupo control para comparación. Cada ensayo fue realizado por triplicado.

2.7 Análisis estadístico

La evaluación de los resultados obtenidos se realizó mediante la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) considerando un nivel de significancia del

95 %. El análisis se desarrolló utilizando el software Microsoft Office Excel 2016 para Microsoft® Windows.

3. Resultados

Tabla 1: Metabolitos secundarios del extracto etanólico de hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. Nota: Presencia del metabolito secundario (+) y Ausencia del metabolito secundario (-).

Metabolitos secundarios	Prueba	<i>Tessaria integrifolia</i> R. et P.
Alcaloides	Mayer	-
	Hager	-
	Dragendorff	-
Antraquinonas	Bortranger	-
Esteroles y Terpenos	Liebermann-Burchard	+
Flavonoides	Shinoda	+
Sesquiterpen-lactonas	Baljet.	+
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	+
Cumarinas	Fluorescencia	+
Saponinas	Rossel	-
Taninos	Gelatina	+

Tabla 2: Crecimiento linfocitario (%) con el tratamiento del extracto etanólico de hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav.

Grupos experimentales	% Crecimiento linfocitario
Control	25 %
5 µg/mL	28 %
10 µg/mL	30 %
25 µg/mL	37 %
50 µg/mL	45 %

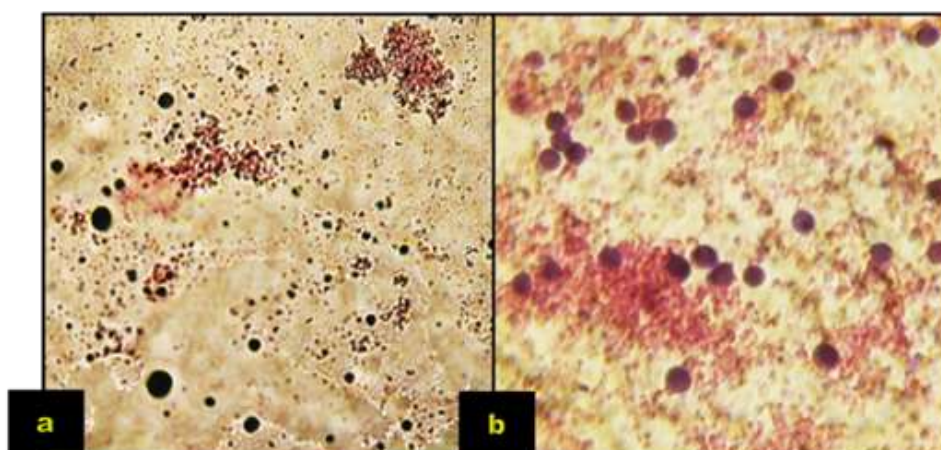


Figura 1: (a) Linfocitos del grupo control y (b) con tratamiento del extracto etanólico de *Tessaria integrifolia* R. et P. 50 µg/mL.

4. Discusión y conclusiones

4.1 Discusión

En la Tabla 1, se muestra el estudio fitoquímico del extracto etanólico de hojas de *Tessaria integrifolia*

Ruiz & Pav. Identificando metabolitos secundarios como: compuestos fenólicos, taninos y flavonoides; esto se debe a que los compuestos fenólicos por lo general están unidos a restos de azúcares, lo cual lo hace soluble en solventes polares, tales como

agua, metanol y etanol. También se identificó terpenos, esteroides, cumarinas y lactonas.

En la Tabla 2 se presenta los valores promedios del porcentaje de linfocitos en los cultivos, para el grupo control el valor es de 25 %, siendo éste menor en comparación con los valores promedio encontrados en los grupos tratados con el extracto etanólico de hojas de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav., este efecto se les atribuye a los metabolitos secundarios presentes en la planta entre ellos los flavonoides.

Los neutrófilos regulan la respuesta inflamatoria a través de la absorción y liberación de citocinas y quimiocinas [15]. Los linfocitos son las únicas células capaces de reconocer antígenos de manera específica y responden mediante su proliferación y diferenciación en células efectoras, cuya función consiste en eliminar el antígeno; y en células de memoria, con una respuesta mayor tras su encuentro posterior con el antígeno [4].

Se ha reportado que los extractos de la especie *T. integrifolia* muestran resultados positivos anti HSV-1 y anti PV-1 a MCNC de 500 mg/ mL [16].

En la figura 1 se muestra que el extracto etanólico de *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. produce un aumento estadísticamente significativo de linfocitos en relación a la dosis creciente del extracto ($p < 0.05$), efecto que se le atribuye a los flavonoides presentes en el extracto.

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se relaciona con su estructura química que les confiere propiedades redox [9].

Ellos pueden intervenir en la adsorción y neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS), como mecanismos de defensa contra infección y el daño oxidativo, sin embargo, la generación excesiva de ROS puede dañar el tejido o moléculas intracelulares, que conducen a la acumulación de peróxidos de lípidos. Este estrés oxidativo se ha relacionado al cáncer, el envejecimiento, la aterosclerosis, la inflamación y las enfermedades neurodegenerativas [17].

4.2 Conclusiones

El extracto etanólico de *Tessaria integrifolia* R. et P. produce un aumento de la respuesta linfocitaria en *Cavia porcellus*.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación del presente artículo.

Referencias

[1]	M. Mahía, Rev Cub Angiol 17 (2) (2016) 150-160.
[2]	Y. Alpízar, L. del Valle, C. Macías, I. Esquivel et al, Rev Cub Hemat, Inmun y Hem 15 (3) (1999) 197-203.
[3]	G. Macpherson y J. Austin, Inmunología. Conceptos y Evidencias (<i>Mc Graw Hill-España, 2013</i>), 1ª ed, p. 5-46.
[4]	A. Abbas, A. Lichtman, S. Pillai. Inmunología Celular y Molecular (<i>Elsevier España, 2011</i>), 7ª ed. Ed., p. 397-440.
[5]	A. Bermúdez, M. Oliveira, D. Velásquez, Interc 30 (8) (2005).
[6]	OMS, Medicina tradicional, Medicamentos Esenciales y Política Farmacéutica (EDM, Ginebra, 2002).
[7]	H. M. Céspedes, Tesis, Universidad Nacional de Trujillo, 2015.
[8]	A. González Siccha, Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Trujillo, 2015.
[9]	M. Quiñones, M. Miguel, A. Aleixandre, Nutr. Hosp 27 (1) (2012) 76-89.
[10]	J. Mostacero, F. Mejía, O. Gamarra, Taxonomía de las Fanerogamas útiles del Perú (2002) 868-870.
[11]	C.R. Silva. Título Tesis, Universidad Nacional de Trujillo, 2011.
[12]	Inka Plus , Pájaro bobo, recuperado de http://www.inkaplus.com/media/web/pdf/P_AJARO%20BOBO.pdf (2019).
[13]	F. Matos, <i>Introdução a fitoquímica experimental</i> (Brasil, 2009), p.45-75.
[14]	O. Lock, Métodos de Estudio de productos Naturales (1999) 284-287.
[15]	A. Basran, M. Jabeen, L. Bingle, C. Stokes et al, J Leukoc Biol 93 (1) (2013) 7-19.
[16]	E. Vivot y M. Cruañes. Cienc docen y tecnol 37 (2008) 177-189.
[17]	M. Cartea, M. Francisco, P. Soengas and P. Velasco, Molecules 16 (1) (2011) 251-280.

E-mail: agonzalez@unitru.edu.pe,
csilva@unitru.edu.pe, sruizr@unitru.edu.pe,
cgamarra@unitru.edu.pe