

Efecto *in vitro* de una solución de *Hibiscus elatus* SW (Majagua) sobre la respuesta de linfocitos y neutrófilos humanos de donantes sanos y enfermos con inmunodeficiencia celular

***In vitro* effects of a *Hibiscus elatus* SW solution (Majagua) on the response of human lymphocytes and neutrophils from healthy donors and ill with cellular immunodeficiency**

Lic. Lázaro O. del Valle Pérez^I; DraC. Consuelo Macías Abraham^I; Lic. Beatriz Socarrás Ferrer^I; Dra. Vianed Marsán Suárez^I; Dra. Miriam Sánchez Segura^I; Dra. Rosa M. Lam Díaz^I; Lic. Julio C. Merlín Linares^I

^IInstituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

El *Hibiscus elatus* SW (majagua) es una especie que se ha utilizado por el hombre con diversos fines. Se estudió el efecto *in vitro* de una solución acuosa de las flores de esta planta sobre los linfocitos y neutrófilos de 20 donantes de sangre sanos y de 20 enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular, mediante la técnica de roseta activa y espontánea, el ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ) y la prueba de función fagocítica. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones experimentales sin *Hibiscus elatus* SW y con esta planta (dilución 1:2), en los parámetros estudiados.

Palabras clave: majagua, *Hibiscus elatus* Sw, roseta espontánea, roseta activa, CD2, CD3.

ABSTRACT

Hibiscus elatus SW (majagua) is a species used by man due to its diverse ends. Authors studied the *in vitro* effect of a aqueous solution of flowers from this plant on lymphocytes and neutrophils of 20 healthy blood donors and from 20 ill

diagnosed with cellular immunodeficiency using active and spontaneous rosette technique, the immunocytochemical ultramicromethod (UMICIQ) and the phagocytic function test. There weren't significant statistically differences among experimental conditions without *Hibiscus elatus* SW and with this plant (dilution 1:2) in study parameters.

Key words: Majagua, *Hibiscus elatus* SW, spontaneous rosette, active rosette, CD2, CD3.

INTRODUCCIÓN

La majagua de flores rojas (*Hibiscus elatus* SW) (HE) es una especie botánica conocida como majagua macho o majagua azul. Es un árbol que alcanza hasta 25 m de altura perteneciente a la familia de las malváceas, natural de Cuba y de Jamaica. Se le han valorado experimentalmente propiedades broncodilatadoras y en Cuba, sus flores se han utilizado como expectorante.

Otras propiedades que se le han atribuido: las hojas como vulneraria y desinfectante y la raíz como laxante. Entre sus componentes están: fenoles y taninos, triterpenos y esteroides, saponinas, mucílagos, carbohidratos y flavonoides; en particular, posee abundante rutina, quercitina y gossypitrina.¹⁻¹³

En Cuba se desarrolla el Programa Nacional de Medicina Natural y Tradicional como estrategia del Ministerio de Salud Pública, por el que se investiga la efectividad terapéutica, la seguridad y el uso racional de forma científica de los productos naturales, y resulta una necesidad controlar las posibles reacciones adversas que se asocian con estos.¹⁴

En la literatura revisada no hemos hallado ninguna investigación acerca del estudio del efecto *in vitro* del HE sobre los linfocitos de donantes de sangre sanos y de enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular, donde se estudiaran los marcadores de membrana CD2 y CD3, la formación de roseta espontánea (RE) y activa (RA), así como la función fagocítica.

En el presente trabajo nos propusimos estudiar el efecto *in vitro* de una solución de HE sobre la expresión de los marcadores de membrana en los linfocitos y la función fagocítica de los polimorfonucleares neutrófilos.

MÉTODOS

Se estudió el efecto *in vitro* del HE sobre los linfocitos procedentes de 20 donantes de sangre voluntarios del Departamento de Medicina Transfusional del Instituto de Hematología e Inmunología; y 20 enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular que no habían recibido medicamento en el mes anterior a la obtención de la muestra.

En cada caso, se extrajeron 20 mL de sangre heparinizada (15 UI/mL) con jeringuillas plásticas desechables. El aislamiento de células mononucleares se efectuó según el método de Böyum modificado sobre un gradiente de Ficoll-Paque™ Plus (densidad 1,077 g/mL) (Amersham Pharmacia, Suecia).¹⁵

Preparación de la solución de HE

Las flores de majagua fueron secadas en una incubadora a 37 °C durante 1 hora; se maceró 1 g de flores de majagua en 10 mL de RPMI 1640; se incubó (1 hora a 4 °C); se centrifugó (2 500 rpm, 4 °C, durante 15 min). El sobrenadante se esterilizó (filtro 0,2 mm, NALGENE, EE. UU.) y la concentración final de la solución fue de 100 mg/mL.

Para evaluar el efecto del HE sobre los linfocitos y los granulocitos neutrófilos se empleó la técnica de exclusión de azul tripán sin exposición al HE y con diluciones dobles de este producto desde 1:2 hasta 1:2048, durante 24 horas a 4 °C, que en todos los casos fue superior al 98 %.

La determinación de los antígenos CD2 y CD3 se realizó sin la estimulación de HE y con esta (dilución seleccionada de 1:2) durante 24 horas previas a su evaluación por el ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ) introducido y modificado en nuestro laboratorio.¹⁶

El estudio del efecto del HE sobre la formación de RA y RE por los linfocitos T, y la función fagocítica mediante la evaluación del índice opsonofagocítico frente a la *Candida albicans*, se efectuó sin incubación y con incubación con HE (dilución 1:2) a 4 °C durante las 24 horas previas.^{17,18}

Para comparar los resultados obtenidos entre las muestras que se expusieron al HE y aquellas en que no se usó este producto, se utilizó la prueba estadística t de Student para muestras pareadas.

Bioética

A los enfermos y a los donantes de sangre se les explicó el objetivo del estudio, los posibles beneficios derivados de los resultados y la ausencia de riesgos asociados. Se confeccionó una planilla para el consentimiento informado de los donantes y de los pacientes que participaron en este estudio.

RESULTADOS

Al comparar la formación de RA y de RE, así como la expresión de los marcadores de membrana CD2 y CD3, entre los linfocitos cultivados con HE y sin esta, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en los donantes ni en los enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular ([tablas 1 y 2](#)).

Similares resultados fueron obtenidos en la función fagocítica de los granulocitos neutrófilos de los donantes y enfermos, que se incubaron sin HE y con esta ([tabla 3](#)).

DISCUSIÓN

Las comunicaciones de estudios con diferentes inmunomoduladores inespecíficos han comprobado que algunos requieren de un sistema inmunológico funcional, varios tienen sus máximos efectos sobre un sistema inmunológico deprimido, mientras que otros actúan, tanto sobre sistemas normales como inmunodeprimidos.¹⁹

En nuestro estudio se demostró que en nuestras condiciones experimentales, el HE, en la dilución empleada, no ejerce efecto inmunomodulador *in vitro* sobre los linfocitos de individuos supuestamente sanos ni de enfermos con inmunodeficiencia celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roig JT. Diccionario Botánico de nombres vulgares cubanos. 4 ed. La Habana: Ed. Pueblo y Educación; 1962. pp. 618-9.
2. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Plantas Medicinales. Fitomed II. La Habana: Ed. Ciencias Médicas; 1994. pp. 73-4.
3. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. 2 ed. La Habana: Ed. Ciencia y Técnica, 1988. pp. 584-5.
4. Milanés R, Alonso D, González G. Farmacognosia de la droga "flores de majagua" (*Hibiscus elatus Sw.*, familia Malvaceae): IV. Estandarización del extracto fluido. Rev Cubana Plant Med 1999;4:82-7.
5. Milanés R, Alonso D, González A, González G, Espín G. Farmacognosia de la droga flores de majagua (*Hibiscus elatus Sw.*; familia Malvaceae) I: Farmacogeografía, farmacoeitimología, farmacoergasia y farmacoeitnología. Rev Cubana Plant Med 1999;4:98-101.
6. Ali BH, Mousa HM, El-Mougy S. The effect of water extract and anthocyanins of *Hibiscus sabdariffa* L on paracetamol induced hepatotoxicity in rats. Phytother Res 2003;17:56.
7. Lin W L, Hsieh YJ, Chou FP, Wang C, Cheng MT, et al. *Hibiscus protocatechuic* acid inhibits lipopolysaccharide induced rat hepatic damage. Arch Toxicol 2003;77:42-7.
8. Pérez Trueba G, Ramos Guanche C, Martínez Sánchez B, Márquez Hernández I, Giuliani A, et al. Protective effect of gossypitrin on carbon tetrachloride induced *in vivo* hepatotoxicity. Redox Rep 2003;8:215-21.
9. Ávila J, Jiménez G, González B, Morón F, Fernández R. Reacciones adversas a medicamentos herbarios y otras formas de medicina tradicional en Cuba durante 2001-2004. Rev Cubana Plant Med 2008;13(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962008000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es

10. García AJ, Ávila J, Alonso L, López P, Ruiz AK, et al. Reacciones adversas reportados por consumo de productos naturales en Cuba durante 2003 y 2007. Rev Cubana Plant Med 2009;14(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
11. Milanés R, Alonso D, González G. Farmacognosia de la droga "flores de majagua" (*Hibiscus elatus Sw*; familia Malvaceae). III Estandarización de la droga cruda. Alteraciones de la droga. Rev Cubana Plantas Med 1999;4:79-81.
12. Márquez I, Cuéllar A, Martínez J, Alemán A, Lora J, et al. Estudio fitoquímico de la especie *Hibiscus elatus Sw*. Rev Cubana Farm 1999;33:127-31.
13. Acevedo M, Hernández R, Marrero O, Sebazco C. Acción del extracto fluido de *Hibiscus elatus Sw* (majagua de flores rojas) sobre la tráquea aislada del curiel. Rev Cubana Med Mil 1994;23:119-22.
14. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Programa Nacional de Medicina Natural y Tradicional. La Habana: Ministerio de Salud Pública;1999. p. 98.
15. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J Clin Lab Invest 1968;10:1041-9.
16. Cruz C, Rivero RA, Suárez L. Detección mejorada del antígeno CD2 por un ultramicrométodo inmunocitoquímico en células T no deshidratadas unidas a láminas recubiertas por poli L lisina y fijadas con vapores de formaldehído. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 1995;11:71-2.
17. Cruz C, Fernández ML, Bernal B, Hernández P, Ballester JM. Técnica de rosetas. La aplicación en pacientes con alteraciones inmunológicas. Rev Cubana Med 1981;20:379-87.
18. Torres I, del Valle LO, Marsán V, Socarrás BB, Macías C. Evaluación evolutiva de la función fagocítica de los polimorfonucleares. Rev Hematol Inmunol Hemoter 2004;20(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
19. Stites D, Stobo J, Fudenberg HH, Well JV. Inmunología básica y clínica. La Habana: Ed. Científico-Técnica; 1987. pp. 296-302.

Recibido: 8 de febrero de 2010.

Aprobado: 24 de febrero de 2010.

Lic. *Lázaro O. del Valle Pérez*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800. Ciudad de La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8695, 643 8268, Fax (537) 644 2334. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu Website: <http://www.sld.cu/sitios/ih>

Tabla 1. Efecto *in vitro* del *Hibiscus elatus SW* (HE) sobre la formación de roseta activa (RA) y espontánea (RE) en donantes de sangre sanos sanos y en pacientes con inmunodeficiencia celular

Individuos	RA (X ± DE) (%)	RA + HE (X ± DE) (%)	RE (X ± DE) (%)	RE + HE (X ± DE) (%)
Donantes	42,75 ± 3,56	44,24 ± 6,10	75,95 ± 6,28	77,56 ± 5,75
Pacientes	29,97 ± 2,65	31,27 ± 2,57	58,94 ± 3,43	59,15 ± 2,49

X ± DE: media ± desviación estándar.

Tabla 2. Efecto *in vitro* del *Hibiscus elatus Sw* (HE) en la expresión de los antígenos CD2 y CD3 en donantes de sangre y en pacientes con inmunodeficiencia celular

Tipo de estudio	Donantes (X ± DE) (%)	Pacientes (X ± DE) (%)
CD2 no estimulado	71,30 ± 4,65	58,65 ± 3,98
CD2 estimulado	70,52 ± 4,35	58,06 ± 3,18
CD3 no estimulado	67,83 ± 5,66	53,04 ± 3,95
CD3 estimulado	68,27 ± 5,45	52,13 ± 4,03

X ± DE: media ± desviación estándar.

Tabla 3. Efecto *in vitro* del *Hibiscus elatus SW* (HE) sobre la función fagocítica de los neutrófilos en donantes de sangre y en pacientes con inmunodeficiencia celular

Individuos	T0 (%)	T15 X ± DE (%)	T15 + HE X ± DE (%)	T60 X ± DE (%)	T60+HE X ± DE (%)
Donantes	100	37,39 ± 7,17	36,59 ± 6,67	17,18 ± 6,17	16,82 ± 6,03
Pacientes	100	62,53 ± 5,65	61,14 ± 5,27	38,97 ± 5,69	37,95 ± 5,58

X ± DE: media ± desviación estándar; T0: tiempo cero o de inicio del estudio; T15: a los 15 min del inicio del estudio; T60: a los 60 min del inicio del estudio.