



DETERMINACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DE UN HIDROGEL DE ACEMANANO QUITOSANO Y ALGINATO.

Yareli Hernández Valencia, José Luis Díaz Victoriano, Keiko Shirai.

Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología. Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto de Bioprocesos de subproductos agroindustriales y de alimentos. Av. San Rafael Atlixco No. 186. Col. Vicentina, C.P. 09340. Iztapalapa, Ciudad de México, México. e-mail: 2123073256.uam@gmail.com, smk@xanum.uam.mx

Palabras clave: Quitosano, Acemanano, Citotoxicidad.

Introducción: El Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) presenta diversos principios activos como el acemanano (AC). Al AC se le atribuyen diversas propiedades como la activación del sistema inmunológico y coadyuvante del proceso de cicatrización⁽¹⁾. Con base en lo anterior, se buscó estandarizar un hidrogel de AC para determinar el efecto de AC en la citotoxicidad sobre componentes celulares de sangre humana.

Metodología. Purificación y caracterización de AC: Se purificó el parénquima de las hojas de Aloe vera. Se prepararon hidrogeles de quitosano y alginato de sodio con varias concentraciones de AC. Se caracterizaron mediante espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y resonancia magnética nuclear de protón (¹HMRN). Los hidrogeles con diferentes concentraciones de AC fueron depositados en sangre de donadores sanos de edad promedio de 20 a 25 años^(2,3). Se realizó el recuento celular para eritrocitos, linfocitos y plaquetas en un hematocitómetro⁽⁴⁾. Se aislaron los linfocitos, se incubaron con bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2H-tetrazolio (MTT) y rojo neutro para determinar la actividad lisosomal (570nm) y mitocondrial (540 nm), respectivamente.^(5,6) A otros cultivos se les adicionó colchicina para determinar su índice mitótico⁽⁷⁾

Resultados. En los espectros FTIR de los componentes y el hidrogel (Fig.1a) se observan las bandas características de cada componente. Así como, la banda en 1597 cm⁻¹ en los espectros de hidrogel que se atribuye a la interacción iónica de los grupos carboxilato de AC con grupos NH³⁺ de quitosano.⁽²⁾ En el espectro de ¹HMRN a 5.4 ppm, 4.2 ppm y 2-2.4 ppm se observa glucosa, ácido málico y acemanano, respectivamente.⁽²⁾ El grado de desacetilación fue de 41.50 ± 0.01 % (Fig. 1b). Los hidrogeles disminuyeron el conteo de eritrocitos y leucocitos a concentraciones de AC mayores al 3%, mientras que para las plaquetas no hubo diferencia significativa después de 4% de AC (Fig. 2). La función mitocondrial e índice mitótico de los linfocitos fueron afectados a concentraciones de 6% y 3%, respectivamente. Mientras que la actividad lisosomal no presentó diferencias significativas en ninguna de las concentraciones de AC evaluadas (Fig.

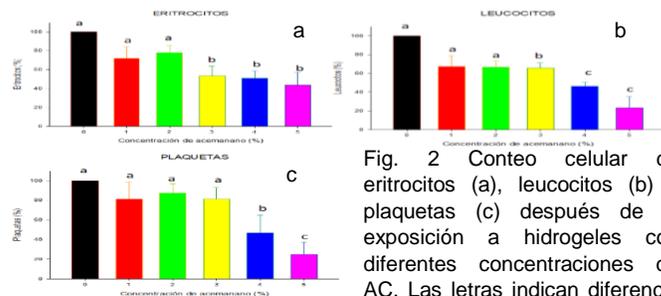


Fig. 2 Conteo celular de eritrocitos (a), leucocitos (b) y plaquetas (c) después de la exposición a hidrogeles con diferentes concentraciones de AC. Las letras indican diferencia significativa mediante la prueba de Tukey Kramer (p<0.05).

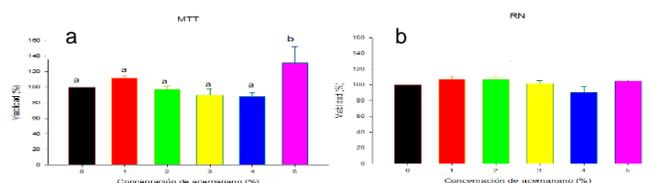


Fig.3. Actividad mitocondrial determinada por la prueba de MTT (a) y lisosomal determinada por la prueba de rojo neutro (b) después de la exposición a hidrogeles con diferentes concentraciones de AC. Las letras indican diferencia significativa mediante la prueba de Tukey Kramer (p<0.05). %viabilidad = $\frac{D.O_{ac}}{D.O_{ctrl}} \times 100$

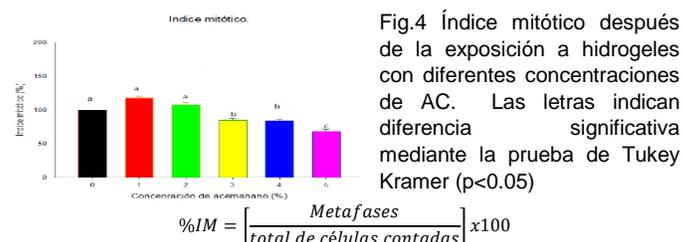


Fig.4 Índice mitótico después de la exposición a hidrogeles con diferentes concentraciones de AC. Las letras indican diferencia significativa mediante la prueba de Tukey Kramer (p<0.05)

$$\%IM = \frac{\text{Metafases}}{\text{total de células contadas}} \times 100$$

Conclusiones El hidrogel quitosano y alginato a las concentraciones de 1 y 2% de AC no alteraron el recuento de los componentes sanguíneos, las funciones mitocondrial y lisosomal de los linfocitos, ni el índice mitótico.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento del CONACYT (proyecto No. 237292) para la realización de este trabajo.

Bibliografía.

- Ajeigbe, K. O., Enitan, S. S., Omotoso, D. R., & Oladokun, O. O. (2013). Afr J Tradit Complement Altern Med, 10(5), 236–243.
- Gallardo R. R. Santamaría a. a., Silva B.P., García L. J., Tecante, A. V., Shirai K., (2018), 192, 84–94.
- Maan, A. A., Nazir, A., Khan, M. K. I., Ahmad, T., Zia, R., Murid, M., & Abrar, M. (2018). J. of Herbal Medicine.
- Mosmann, T. (1983). J. Immunological Methods, 65(1–2), 55–63.
- O'leary, T. J., & Steffes, M. W. (1996). Human Pathology, 27(2), 147–151.
- Repetto, G., del Peso, A., & Zurita, J. L. (2008). Nature Protocols, 3(7), 1125–1131.
- Smith-Temple, J., & Johnson, J. Y. (1995). Guía de procedimientos para enfermeras. Ed. Médica Panamericana.

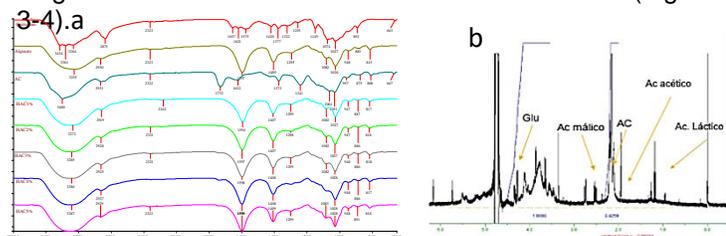


Fig.1 Espectros de FIRT-ATR de componentes e hidrogeles (a) y HRMN de AC (b).