



Revista
Cubana de

EDITORIAL CIENCIAS MÉDICAS

Medicina Tropical

Inicio	Acerca de...	Ingresar	Registro	Resúmenes de Tesis	Números anteriores
------------------------	------------------------------	--------------------------	--------------------------	------------------------------------	------------------------------------

Inicio > Vol 67, No 3 (2015) > Piñón Tápanes

COMUNICACIÓN BREVE








Español

Evaluación *in vitro* de extractos de invertebrados marinos frente a *Leishmania amazonensis*

Lic. Abel Piñón Tápanes, MSc. Marley García Parra, MSc. Judith Mendiola Martínez, Lic. Aneisy Pérez Hernández, DrC. Lianet Monzote Fidalgo

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

Herramientas del artículo

-  [Resumen](#)
-  [Imprimir este artículo](#)
-  [Información de indexación](#)
-  [Información bibliográfica](#)
-  [Política de Revisión](#)
-  [Envía por correo este artículo \(Se requiere entrar\)](#)
-  [Mandar correo-e a autor/a \(Se requiere entrar\)](#)

RESUMEN

La leishmaniasis es una parasitosis causada por protozoos del género *Leishmania*, la cual es endémica en 98 países donde incide con alrededor de 2 millones de nuevos casos por año. Los fármacos utilizados en su tratamiento, presentan numerosos efectos tóxicos, elevado costo y un largo período de aplicación, se añade también la emergencia de la resistencia a los mismos. La medicina natural y el empleo de los recursos naturales se utilizan como alternativas a la terapia actual. El objetivo del trabajo, evaluar la actividad antileishmanial de 15 extractos de invertebrados marinos. Para ello, se determinó la inhibición del crecimiento causada por los extractos frente a promastigotes y amastigotes de *Leishmania amazonensis*, así como su citotoxicidad frente a macrófagos peritoneales de ratón BALB/c. De los productos evaluados solo 4 (26,7 %) causaron inhibición del crecimiento de los parásitos, mientras que solo el extracto de *Echinometra lucunter* mostró selectividad (IS = 5) y actividad frente a amastigotes intracelulares (CI₅₀ de 28,1 ± 6,0 µg/mL). Estos resultados promisorios brindan conocimientos acerca de la posibilidad de utilizar el extracto de *E. lucunter* como agente anti-leishmanial.

Palabras clave: invertebrados marinos, leishmaniasis, enfermedades tropicales.

Usuario/a

Nombre usuario/a
 Contraseña
 Recordar mis datos

Contenido de la Revista

Buscar
 Todos

 Navegar

- [Por número](#)
- [Por autor](#)
- [Por título](#)

Palabras Clave

[Aedes aegypti](#) [Aedes albopictus](#) [Anopheles albimanus](#) [Costa Rica](#) [Cuba](#) [Cuba](#). [Klebsiella spp.](#) [La Habana](#) [Tuberculosis control demora del diagnóstico](#) [dengue eliminación resistencia antimicrobiana](#) [riesgo sitios de cría trabajadores de la salud](#) [transmisión tuberculosis](#) [vigilancia virus dengue](#)

Sobre los autores

Abel Piñón Tápanes

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis forma parte del grupo de enfermedades tropicales que afecta un gran número de personas (con alrededor de 350 millones en riesgo). Tiene una incidencia de 2 millones de nuevos casos reportados por año, en 98 países donde es endémica.¹ La terapia actual involucra fármacos con diversas limitantes como: elevada toxicidad, administración parenteral, largo período de aplicación, alto costo y la generación de mecanismos de resistencia a los mismos.² Debido a estos aspectos, es esencial el descubrimiento de nuevos compuestos con propiedades anti-leishmanial para el desarrollo de alternativas a la terapia vigente.³ Entre las diversas estrategias utilizadas en la actualidad se ha promovido y respaldado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) el uso de la medicina natural y tradicional, en especial en aquellos lugares donde los servicios de salud apropiados son inaccesibles.⁴

Revista Cubana de Medicina Tropical

Indexada en: WoK (SciELO Citation Index), SCOPUS, Ulrich's, LILACS, PubMed (MedLINE), Excerpta Médica, Biol. Abstr., Chem. Abstr. Index Medicus, Index Latinoamericano, Nutr. Abstr., Abstr. Hyg., Curr. Adv. Ecol. Sci., Helminthol. Abstr., Protozool. Abstr. Rev. Med. & Vet. Mycol., Trop. Dis. Bull., Repindex, Cubacencias, SciELO, Latindex.

Editorial Ciencias Médicas. Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas, Ministerio de Salud Pública.

Calle 23 No. 654 e/ D y E. Plaza de la Revolución, La Habana, CP: 10 400, Cuba | Teléfs.: (537) 833 0268
Horario de atención: lunes a viernes, de 8:30 a.m. a 5:00 p.m.

desarrollo e incremento de fármacos derivados de organismos procedentes del medio marino frente a diversos protozoos.⁷ Entre estos podemos mencionar los invertebrados, compuesto por especies de más de 30 familias y 40 géneros.¹³ En este trabajo, se evalúa la actividad de 15 extractos de invertebrados marinos en modelos *in vitro* frente a *Leishmania amazonensis*.

- Para autoras/es
- Para bibliotecarias/os

Parásitos

Se utilizó la cepa MHOM/77/LTB0016 de *L. amazonensis*, donada por el Departamento de Inmunología de la Fundación Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. Los parásitos se mantuvieron en medio Schneider (SIGMA, St. Louis, MO, EUA), suplementado con antibióticos (penicilina sódica 200 UI, estreptomycin 200 µg/mL) y 10 % de suero fetal bovino (SIGMA, St. Louis, MO, USA) inactivado con calor (56 °C, 30 min).

Organismos

Todos los organismos utilizados pertenecen al grupo de los invertebrados marinos. En la [tabla 1](#) se muestran las especies utilizadas, nombre de la familia, tipo de extracto, lugar de colecta, parte del cuerpo utilizada y número de espécimen. Los organismos evaluados fueron colectados en la costa Norte de zonas de La Habana y Pinar del Río y un ejemplar de cada uno fue depositado en la colección del Acuario Nacional de Cuba.

Tabla 1. Especies de invertebrados marinos evaluados frente a *Leishmania amazonensis*

Especie	Familia	Extracto	Parte utilizada	Zona de colecta	F
<i>Bartholomea annulata</i> Lesueur, 1817	Apitasiidae	hidroalcohólico	cuerpo	Litoral Acuario Nacional	F
<i>Cassiopea xamachana</i> Bigelow, 1892	Rhizostomae	hidroalcohólico	cuerpo	Santa Fe, La Habana	Se
<i>Echinometra lucunter</i> Linnaeus, 1758	Echinometridae	hidroalcohólico	parte interna	Litoral Acuario Nacional	Se

		hidroalcohólico	cuerpo	Litoral Acuario Nacional	Se
<i>Hermodice carunculata</i> Pallas, 1766	Amphinimidae	hidroalcohólico	cuerpo	Litoral Acuario Nacional	F
<i>Holothuria mexicana</i> Ludwig Diels, 1875	Holothuriidae	hidroalcohólico	cuerpo	Puerto Esperanza, Pinar del Río	At
<i>Lissodendoryx isodictyalis</i> Carter, 1882	Coelosphaeridae	hidroalcohólico	cuerpo	Costa Norte de La Habana y Pinar del Río	At
<i>Lytechinus variegatus</i> Lamarck, 1816	Toxopneustidae	hidroalcohólico	cuerpo	Costa Norte de La Habana y Pinar del Río	At
<i>Molgula occidentalis</i> Traustedt, 1883	Molgulidae	hidroalcohólico	cuerpo y tónica	Costa Norte de La Habana y Pinar del Río	At
<i>Phallusia nigra</i> Savigny, 1816	Asciidiidae	hidroalcohólico	cuerpo y tónica	Costa Norte de La Habana y Pinar del Río	At
<i>Protopalythoa variabilis</i> Duerden, 1898	Sphenopidae	hidroalcohólico	cuerpo	Litoral Acuario Nacional	F
<i>Sabellastarte magnifica</i> Shaw, 1880	Sabellidae	hidroalcohólico	cuerpo	Litoral Acuario Nacional	F
<i>Stichodactyla helianthus</i> Ellis, 1768	Stichodactylidae	acuoso	completo	Costa Norte de La Habana	F

^a : ANC (Acuario Nacional de Cuba), IDO (Instituto de Oceanología).

Preparación de los extractos

Se prepararon un total de 15 extractos a partir de 13 especies de invertebrados marinos según se describe en la [tabla 1](#). Las muestras de cada organismo se maceraron con agitación ocasional durante una semana, se utilizó etanol al 80 %. De los organismos *Holothuria mexicana*, *Lissodendoryx isodictyalis*, *Lytechinus variegatus* y *Phallusia nigra*; se llevó a cabo un proceso de autólisis con agua destilada y regímenes intermitentes de homogenización mecánica con *Waring-Blender* durante 2 min en etanol al 80 %. Las suspensiones se mantuvieron en maceración a 4 °C durante 72 h con agitación ocasional. Estas se centrifugaron a 10 000 *g* y se colectó el sobrenadante. Todos los extractos fueron liofilizados y almacenados a -20 °C. Una muestra fue disuelta a 20 mg/mL en dimetilsulfóxido y almacenada a 4 °C para realizar las evaluaciones biológicas.

Fármaco de referencia

Se empleó la pentamidina (Richet, Buenos Aires, Argentina) a una concentración de 10 mg/mL, fármaco de uso clínico en el tratamiento de la leishmaniasis.

Actividad frente a promastigotes

Los extractos se adicionaron en concentraciones de 12,5 a 200 µg/mL a cultivos de promastigotes que se ajustaron a 10⁵ parásitos/mL. A continuación, se incubaron durante 72 h a 26 °C. La actividad se determinó mediante un método colorimétrico con el uso de una solución de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2,5-difeniltetrazolio) (MTT, SIGMA, St. Louis, MO, USA). Los resultados se expresaron como concentración inhibitoria media (CI₅₀). Los extractos que mostraron una CI₅₀ menor que 100 µg/mL fueron seleccionados para realizar el estudio de citotoxicidad.

Citotoxicidad

Para evaluar la toxicidad se extrajeron macrófagos peritoneales de ratones BALB/c mediante lavados con RPMI (SIGMA, St. Louis, MO, USA) suplementado con antibióticos (penicilina sódica 200 UI, estreptomycinina 200 mg/mL). Se sembraron a una concentración de 3 x 10⁵ células/mL y se trataron con los extractos a concentraciones desde 12,5 hasta 200 µg/mL, durante 72 h a 5 % de CO₂ y 37 °C. La actividad se determinó mediante el uso de una solución de MTT como se explicó antes y se determinó la concentración citotóxica media (CC₅₀). Detrás, se calculó el índice de selectividad (IS) mediante la división de la CC₅₀ entre la CI₅₀ frente a promastigotes. Los extractos que mostraron un IS mayor o igual que 5, se evaluaron frente a amastigotes intracelulares de *L. amazonensis*.

Actividad frente a amastigotes

Se extrajeron macrófagos peritoneales de ratones BALB/c, como se describió previo. Estas células se infectaron con promastigotes estacionarios a razón de 4 parásitos por macrófago durante 4 h y se trataron con 10 µL de cada extracto a una concentración final entre 12,5 y 100 µg/mL. Después de 48 h de incubación a 37 °C y 5 % CO₂, se realizaron conteos directos en cultivos teñidos por Giemsa y se calculó la CI₅₀ frente a amastigotes. Se seleccionaron como candidatos potenciales los extractos que mostraron una CI₅₀ menor que 50 µg/mL.

Análisis estadístico

La CI₅₀ y la CC₅₀ en todos los ensayos realizados se obtuvieron solo de una curva de regresión lineal y fue el resultado de la media de tres réplicas realizadas por separado. Los valores fueron comparados por *Mann-Whitney*, con el uso del programa STATISTICA para Windows, Versión 4.5, 1993.

De los 15 extractos evaluados frente a promastigotes de *L. amazonensis*, solo 4 mostraron inhibición del crecimiento de los parásitos. De estos, solo el extracto de

E. lucunter, preparado a partir de la parte interna del organismo, mostró baja citotoxicidad, con un IS de 5 (tabla 2). Al evaluar dicho extracto frente a amastigotes intracelulares del parásito se obtuvo una CI_{50} de $28,1 \pm 6,0 \mu\text{g/mL}$; mientras que la pentamidina mostró valores de $1,3 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$.

En este trabajo, el 26,7 % de los productos evaluados causaron actividad frente a promastigotes de *L. amazonensis*. Sin embargo, solo el 6,7 % mostró selectividad y actividad frente a amastigotes intracelulares.

En la literatura revisada no se encontraron trabajos que reporten la actividad anti-leishmanial del equinoideo *E. lucunter*. Sin embargo, otros invertebrados marinos como esponjas, octocorales, briozoos y ascidias han mostrado efecto frente a *Leishmania*.^{14,15} De ellos se puede mencionar el extracto de *Physalia physalis* que mostró resultados similares ($CI_{50} = 52,2 \mu\text{g/mL}$ en promastigotes y $CI_{50} = 40,5 \mu\text{g/mL}$ frente a amastigotes)¹⁴ a los hallados en este estudio, corroborándose así la potencialidad de los invertebrados marinos como posibles fuentes de metabolitos activos frente a este protozoo parásito.

Los valores de CI_{50} de *E. lucunter* ($28,1 \mu\text{g/mL}$) fueron superiores a los obtenidos con la pentamidina ($1,3 \mu\text{g/mL}$) frente a amastigotes de *L. amazonensis*. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que es probable que los principios activos en el extracto ocupen un bajo por ciento de la compleja mezcla de componentes que lo conforman. Para lograr una mejor eficiencia de su actividad anti-leishmanial, se podría realizar el fraccionamiento y purificación de sus componentes activos.

E. lucunter es un organismo que habita en rocas de aguas costeras hasta 45 m de profundidad, alimentándose de algas y animales que viven incrustados en la superficie de las rocas.¹⁶ Esta especie se encuentra distribuida desde Carolina del Norte (EUA) y Las Bermudas hasta Santa Catalina (Brasil), e incluye El Caribe y zonas del Este de África.¹⁶⁻¹⁸ Desde el punto de vista farmacológico, no se encontraron evidencias científicas sobre su utilidad terapéutica, por lo que este trabajo constituye el primer reporte sobre efecto farmacológico relacionado con esta especie. Este hallazgo permite sugerir a la comunidad científica internacional la exploración de *E. lucunter* como posible agente terapéutico, así como la utilización de los invertebrados marinos como fuentes de novedosos compuestos con actividad biológica.

Al tener en cuenta estos resultados, se puede considerar el extracto de *E. lucunter* como un promisorio agente anti-leishmanial. Se sugiere que sean realizados estudios químicos con el objetivo de identificar y purificar sus posibles metabolitos activos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvar J, Velez ID, Bern C. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PloS ONE. 2012;7:1-12.
2. Castillo E, Dea-Ayuela MA, Bolás-Fernández F, Rangel M, González-Rosende ME. The kinetoplastid chemotherapy revisited: current drugs, recent advances and future perspectives. Curr Med Chem. 2010;17(33):4027-51.
3. Cunha LC. Apropolisno combate a tripanosomatídeos de importancia médica: uma perspectiva terapéutica para doença de Chagas e leishmaniose. Pat Trop. 2011;40(3):105-24.
4. Rocha LG, Almeida JR, Macedo RO, Barbosa-Filho JM. A review of natural products with antileishmanial activity. Phytomedicine. 2005;12(6-7):514-35.
5. Faulker DJ. Marine natural products. Nat Prod Rep. 1998;15:113-58.
6. Lam KS. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. Curr Opin Microbiol. 2006;9:245-51.
7. Sima P, Vetvicka V. Bioactive substances with anti-neoplastic efficacy from

marine invertebrates: Porifera and Coelenterata. World J Clin Oncol. 2011;2:355-61.

8. Brito IM. Asteróides e equiníodes do Estado da Guanabara a adjacencias. Bolm Mus Nac Ser Zool. 1968;260:1-51.

9. Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. Marine natural products. Nat Prod Rep. 2006;23:26-78.

10. Kelecom A. Chemistry of Marine Natural Products: Yesterday, Today and Tomorrow. An Acad Bras Cienc. 1999;71:249-63.

11. Capon RJ. Marine bioprospecting-trawling for treasure and pleasure. Eur J Org Chem. 2001;2001:633-45.

12. Haefner B. Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates. Drug Discov Today. 2003;8:536-44.

13. García M, Monzote L. Marine Products with Anti-Protozoal Activity: A Review. Curr Clin Pharm. 2014;9:11.

14. García M, Monzote L, Castañeda O, García N, Pérez A. Antileishmanial activity for six extracts from marine organisms. Rev Cub Med Trop. 2012;64(1):61-4.

15. Selegim MHR, Lira SP, Kossuga MH, Batista T, Berlinck S, Hadju E, *et al.* Antibiotic, cytotoxic and enzyme inhibitory activity of crude extracts form Brazilian marine invertebrates. Bras J Pharmacog. 2007;17(3):287-318.

16. Tommasi L. Lista dos equiníodes recentes do Brasil. Ser Ocean Biol. 1966;11(1):1-50.

17. Bernasconi I. Equinoideos y Asteroideos de la colección del Instituto Oceanográfico de la Universidad de San Pablo. Bolm Inst oceanogr S Paulo. 1955;6(1-2):51-77.

18. Hendler G. Sea stars, sea urchins, and allies: echinoderms of Florida and the Caribbean. Smith Inst Press. 1995;1:197-249.

Recibido: 18 de febrero de 2015.

Aceptado: 16 de julio de 2015.

Lianet Monzote Fidalgo. Departamento de Parasitología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ AP 601, Municipio Lisa, La Habana, Cuba.

Correo electrónico: monzote@ipk.sld.cu

Refbacks

No hay Refbacks actualmente.

[Creative Commons License](#)

Este trabajo está licenciado bajo la licencia [Creative Commons Attribution 3.0](#).