

**Efecto *in vitro* de una solución de *Passiflora incarnata L.* sobre la respuesta de linfocitos humanos de donantes sanos y de enfermos con inmunodeficiencia celular**

**In vitro effect of a *Passiflora incarnata L.* solution on the response of human lymphocytes from healthy donors and from patients with cellular immunodeficiency**

Lic. Lázaro del Valle-Pérez, DraC. Consuelo Macías-Abraham, Lic. Bertha Beatriz Socarrás-Ferrer, Dra. Vianed Marsán-Suárez, Dra. Miriam Sánchez-Segura, Lic. Lourdes Palma-Salgado, Dra. Rosa María Lam-Díaz, Lic. Julio César Merlín-Linares

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

---

**RESUMEN**

La *Passiflora incarnata L.* es una especie que se ha utilizado por el hombre con diversos fines. Se estudió el efecto *in vitro* de un extracto fluido de esta planta sobre los linfocitos de 20 donantes voluntarios de sangre y de 20 enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular, mediante la técnica de formación de roseta activa, roseta espontánea y el ultramicrométodo inmunocitoquímico, así como en la función fagocítica de los neutrófilos. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones experimentales sin pasiflora y con pasiflora, en las técnicas de formación de rosetas ni en la expresión de los marcadores de linfocitos CD2 y CD3. Similares resultados se hallaron con la función fagocítica de los neutrófilos en la misma dilución.

**Palabras clave:** pasiflora, *Passiflora incarnata L.*, roseta activa y espontánea, índice osonofagocítico, UMICIQ, CD2, CD3.

---

**ABSTRACT**

*Passiflora incarnata* L. is a species that has been used by man for various purposes. It was studied the effect *in vitro* of a fluid extract of this plant on lymphocytes from 20 blood donors and 20 patients with cellular immunodeficiency diagnosis, using the technique of active rosette formation, and spontaneous rosette immunocytochemical ultramicromethod and in the phagocytic function of neutrophils. We found no statistically relevant differences between experimental conditions with and without *Passiflora*, neither in the rosette formation techniques or the expression of lymphocyte markers CD2 and CD3. Similar results were found with the phagocytic function of neutrophils in the same dilution.

**Key words:** pasiflora, *Passiflora incarnata* L., active and spontaneous rosette, opsonofagocytic rate, UMICIQ, CD2, CD3.

---

## INTRODUCCIÓN

Los productos naturales actúan de la misma manera que los fármacos convencionales, es decir, por los principios activos presentes en su composición. Las plantas contienen muchos compuestos químicos que tienen actividad biológica. La mayoría de los grupos de fármacos se descubrieron y se desarrollaron a partir del reino *Plantae*, aunque ahora se produzcan sintéticamente.<sup>1</sup>

La *Passiflora incarnata* L. (PI), más conocida como pasiflora, es una especie de la familia de las pasifloráceas y pertenece al género *Pasiflora*, que agrupa a más de 500 especies. Se le han adjudicado efectos potenciales para el tratamiento de la ansiedad, el insomnio y el déficit de la atención. Entre los componentes de la planta se encuentran fenoles, cianocarbina, alcaloides y flavonoides (responsable del efecto sedante). También se ha reportado la presencia de ácido hidrocianico, cítrico, málico, pantoténico y tánico.

En los extractos secos de PI se ha comprobado la presencia de flavonoides, aminoácidos, aminos, azúcares y oligoelementos.<sup>2-8</sup>

En el estudio mutagénico y toxicogénico de un extracto fluido de PI utilizando 2 sistemas de ensayos a corto plazo, uno *in vitro* y otro *in vivo*, ninguna de las diluciones empleadas mostró daño celular ni actividad mutagénica.<sup>9</sup>

En un estudio realizado en Cuba entre los años 2003 y 2007 sobre las reacciones adversas por consumo de productos naturales, la PI ocupó el octavo lugar, con el 5,1 % de los casos reportados.<sup>1</sup>

Este trabajo se realizó para determinar el efecto *in vitro* de un extracto fluido de PI sobre los linfocitos y neutrófilos humanos de donantes sanos y de enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular o déficit de la inmunidad celular.

## MÉTODOS

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

A los 20 pacientes seleccionados para este estudio con diagnóstico previo de déficit de la inmunidad celular se les había estudiado cuantificación de linfocitos T mediante roseta espontánea (RE) y roseta activa (RA) e índice opsonofagocítico (FF) por la *Candida albicans*. Se consideró que presentaban inmunodeficiencia celular cuando uno o ambos parámetros mostraron valores por debajo de los de referencia establecidos, asociados con la evaluación clínica realizada en la consulta de Inmunología.

En cada caso, se extrajeron 15 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 Histopaque-1077 (densidad 1,077g/mL) (Sigma-Aldrich, EE.UU).<sup>10</sup>

### *Preparación de la solución de PI:*

Se utilizó un extracto fluido Lote 411001 de PI de CPL Oeste el cual se esterilizó (filtro 0,2 mm, NALGENE, EE. UU.).

Para evaluar el efecto de la PI sobre la viabilidad de los linfocitos y neutrófilos se utilizó la técnica de exclusión del azul tripán sin exposición a las diluciones de PI y con diluciones dobles de este producto, desde 1:2 hasta 1:4096, durante 24 horas a 4 °C. La viabilidad celular estuvo disminuida hasta la dilución 1:128 y a partir de esta, fue superior al 95 %. Se ensayaron todos los experimentos con la PI, dilución 1:256, que se consideró como óptima.

La determinación de los antígenos de los linfocitos (CD2 y CD3) se realizó sin estimulación y con estimulación de PI, durante 24 horas previas a su evaluación, y el porcentaje de estos antígenos se efectuó por el ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ) introducido y modificado en nuestro laboratorio.<sup>11</sup>

El estudio de la acción de la PI sobre la formación de RA y RE y la FF se realizó sin incubación y con incubación con la PI a 4 °C durante las 24 horas previas al estudio.<sup>12,13</sup>

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

Todos los participantes expresaron su consentimiento informado para formar parte del estudio.

## RESULTADOS

Al comparar la formación de RA y RE, así como la expresión de los marcadores de membrana CD2 y CD3, entre los linfocitos estimulados con PI 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 hallados con la prueba de función fagocítica de los neutrófilos de los donantes y de los enfermos que se incubaron sin PI y con esta ([tabla 3](#)).

**Tabla 1.** Efecto *in vitro* de la *Passiflora incarnata* (PI) sobre la formación de roseta activa (RA) y espontánea (RE) en donantes sanos y en pacientes con inmunodeficiencia celular

Individuos	RA (x ± DE) (%)	RA + PI (x ± DE) (%)	RE (x ± DE) (%)	RE + PI (x ± DE) (%)
Donantes	41,93 ± 4,33	41,53 ± 3,70	73,40 ± 6,48	74,20 ± 6,46
Pacientes	29,87 ± 3,11	30,07 ± 2,09	59,40 ± 2,72	58,47 ± 2,33

(x ± DE): media ± desviación estándar.

**Tabla 2.** Efecto *in vitro* de la *Passiflora incarnata* (PI) 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	70,20 ± 5,23	60,27 ± 3,59
CD2 + PI	69,31 ± 5,85	60,73 ± 2,25
CD3 no estimulado	65,33 ± 6,52	53,20 ± 3,19
CD3 + PI	66,27 ± 6,57	53,53 ± 2,26

(x ± DE): media ± desviación estándar.

**Tabla 3.** Efecto *in vitro* de la *Passiflora incarnata* L. (PI) sobre la función fagocítica de los neutrófilos en donantes de sangre y en pacientes con inmunodeficiencia celular

Individuos	T0 (%)	T15 (x ± DE) (%)	T15+PI (x ± DE) (%)	T60 (x ± DE) (%)	T60+PI (x ± DE) (%)
Donantes	100	38,22 ± 7,34	37,98 ± 7,67	17,03 ± 7,67	16,55 ± 6,08
Pacientes	100	52,88 ± 11,10	52,70 ± 10,73	24,38 ± 5,67	23,04 ± 4,99

(x ± DE): media ± desviación estándar; T0: tiempo cero o de inicio del estudio; T15: tiempo a los 15 minutos del inicio del estudio; T60: tiempo a los 60 minutos del inicio del estudio.

## DISCUSIÓN

En nuestro estudio se halló que en las condiciones experimentales la PI no ejerce efecto inmunomodulador *in vitro* sobre los linfocitos y neutrófilos de individuos sanos ni en enfermos con inmunodeficiencia celular. Estimamos que este estudio, aunque preliminar, permite afirmar que la PI en nuestras condiciones experimentales no inhibe ni aumenta la formación de RA, RE ni la expresión de los antígenos CD2 y CD3, así como la función fagocítica de los neutrófilos humanos de individuos sanos ni en enfermos con inmunodeficiencia celular expuestos a la PI. De todas formas, en la actualidad existe el criterio de que es importante la publicación de los resultados negativos en las investigaciones, ya que esto puede contribuir en la preparación de futuras investigaciones durante su planificación por interesados en el tema.

En la literatura revisada no hemos hallado el estudio del efecto *in vitro* de la PI sobre los linfocitos y los neutrófilos de enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular e individuos sanos.

Teniendo en cuenta que la PI es una planta medicinal aceptada por el Ministerio de Salud Pública de Cuba como una alternativa más de tratamiento, consideramos que se debe continuar trabajando en estudios preclínicos y clínicos *in vitro* mediante citometría de flujo, para el estudio de otras moléculas de activación y la proliferación linfocitaria, lo que permitirá conocer la influencia de la PI sobre otros elementos de la respuesta inmunológica y su potencial terapéutico como inmunomodulador.

## Agradecimientos

A la Lic. Ana Iris González y a las técnicas Martha Ponce Sandoval, Yamila Junco y Gladys Graña Ayllón, por la colaboración brindada en la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García AJ, Ávila Y, Alonso L, López P, Karelía A, Morón F. Reacciones adversas reportadas por consumo de productos naturales en Cuba durante 2003 y 2007. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2009 Mar [citado 2011 Mayo 17]; 14(1): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962009000100002&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000100002&lng=es)
2. Capasso A, Sorrentino L. Pharmacological studies on the sedative and hypnotic effect of kava and Passiflora extracts combination. Phytomedicine. 2005 Jan; (1-2)12: 39-45.
3. Plantas medicinales. Fitomed. La Habana: Ciencias Médicas; 1991. p.75.
4. García M, Kim N, Bich N, Tillan J, Romero JA, López OD, et al. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. Rev Cubana Plant Med. 2009 Abr-Jun; 14(2): Disponible

en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962009000200004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000200004&lng=es)

5. Buchbauer C, Jirovetz JW. Passiflora and lemo-blossoms motility of essential oil and of some of the constituents in animals experiment. Arch Pharm. 1992 Apr; 325: 247-8.
6. Dhawan K, Dhawan S, Sharma A. Passiflora: A review update. J Ethnopharmacol. 2004 Sept; 94(1): 1-23.
7. Akhondzadeh S, Naghavi HR, Vazirian M, Shayeganpour A, Rashidi H, Khani M. Passion flower in the treatment of generalized anxiety: A pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. J Clin Pharm Ther. 2001 Oct; 26(5): 363-7.
8. Reginatto FH, De Paris F, Petry RD, Quevedo J, Ortega GG, Gosmann G, et al. Evaluation of anxiolytic activity of spray dried powders of two South Brazilian Passiflora species. Phytother Res. 2006 May; 20(5): 348-51.
9. Vizoso A, Ramos A, Villaescusa A, Betancourt J, García A, Piloto J, et al. *Passiflora incarnata* L. y *Senna alata*(L.) Roxo: Estudio toxicogenético que emplea 2 sistemas de ensayos a corto plazo. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2002 Abr [citado 2011 Mayo 17]; 7(1): 27-31. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962002000100006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962002000100006&lng=es)
10. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J Clin Lab Invest. 1968 (suppl 97); 10: 77.
11. 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 L lisina y fijadas por vapores de formaldehído. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 1995 Ene-Jun; 11(1): 71-2.
12. Cruz C, Fernández ML, Bernal B, Hernández P, Ballester JM. Técnica de rosetas. La aplicación en pacientes con alteraciones inmunológicas. Rev Cubana Med. 1981 Oct-Dic; 20(4): 379-87.
13. Torres-Leyva I, del Valle-Pérez L, Marsán-Suárez V, Socarrás-Ferrer BB, Macías-Abraham C. Evaluación evolutiva de la función fagocítica de los polimorfonucleares. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2004 Ago [citado 2011 Mayo 17]; 20(2): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892004000200003&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200003&lng=es)

Recibido: 13 de septiembre del 2011.

Aprobado: 11 de octubre del 2011.

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