

# Efecto de aceites esenciales sobre la fagocitosis en neutrófilos humanos

Renato Pérez-Rosés<sup>a</sup>, Ester Risco<sup>a</sup>, Roser Vila<sup>1</sup>, Pedro Peñalver<sup>b</sup> and Salvador Cañiguera<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona. Av. Joan XXIII, s/n. E-08028 Barcelona, España.

<sup>b</sup> Lidervet, S.L. Plaça García Lorca, 17, Baixos. E-43006 Tarragona, España.



## Introducción

La fagocitosis es el principal mecanismo empleado para eliminar patógenos y desechos celulares en el sistema inmune. Los ensayos que analizan el efecto de los aceites esenciales sobre la fagocitosis son escasos y poco concluyentes. En el presente trabajo se ha estudiado el efecto de 15 aceites esenciales y 4 compuestos puros (Tabla 1) sobre la fagocitosis en neutrófilos humanos.

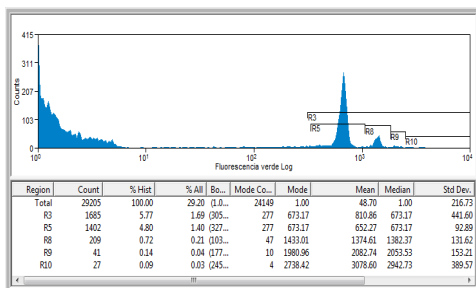


Figura 1. Histograma monoparamétrico de la fluorescencia asociada a las microsferas fagocitadas. Se observan varios picos de fluorescencia, según fueran fagocitadas 1, 2, 3, 4 o más microsferas.

## Métodos

Todas las sustancias estudiadas procedían de fuentes comerciales. Los constituyentes de los aceites esenciales fueron identificados mediante GC-FID y GC-MS y cuantificados por normalización de áreas de los cromatogramas del GC-FID.

Los leucocitos se aislaron a partir de "buffy coats" obtenidos de sangre humana proveniente de voluntarios sanos. La valoración de la actividad sobre la fagocitosis fue realizada *in vitro* por citometría de flujo [1], empleando microsferas fluorescentes como elementos a fagocitar y lipopolisacáridos de *E. coli* como control positivo. Los análisis citométricos fueron grabados como archivos (listmodes) para posteriormente ser reprocesados mediante el software especializado Summit versión 4.2 para Windows (Figura 1).

Se calculó la estimulación de la fagocitosis, como variación en porcentaje de la capacidad fagocítica en las células tratadas con respecto a las células control.

El efecto de las diferentes concentraciones de aceite esencial fue comparado con los controles no tratados mediante un análisis de varianza seguido de una prueba de Dunnett. La concentración inhibitoria 50% (IC50) fue calculada cuando fue posible por interpolación en una curva dosis-respuesta. Para el análisis estadístico se utilizó el software Graphpad, Prism versión 5.0 para Windows.

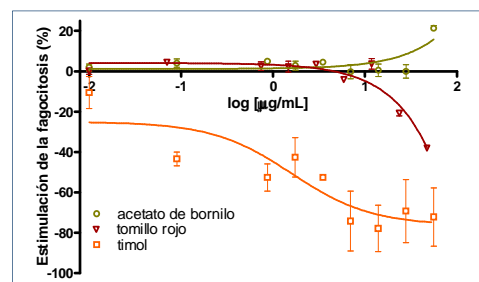


Figura 2. Estimulación de la fagocitosis por acetato de bornilo, aceite esencial de tomillo rojo y timol (% media±DS, n=4).

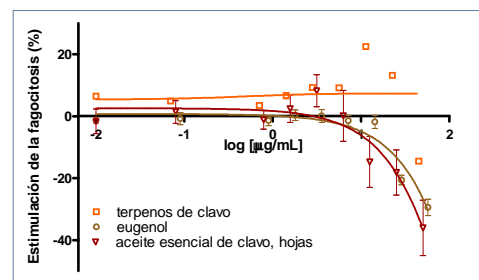


Figura 3. Estimulación de la fagocitosis por el aceite esencial de clavo, la fracción terpenica del aceite de clavo y el eugenol (% media±DS, n=4).

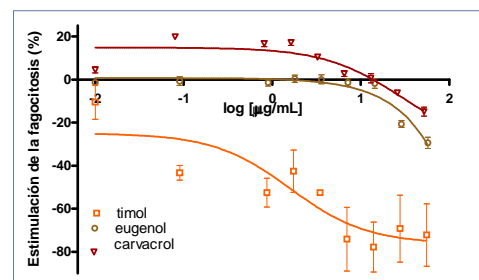


Figura 4. Estimulación de la fagocitosis por timol, eugenol y carvacrol (% media±DS, n=4).

## Resultados y discusión

Tabla 1. Efecto sobre la fagocitosis (% ± DE; n=4) a la máxima concentración estudiada 5,0 x 10<sup>-2</sup> % (v/v) <sup>a</sup>.

Aceite esencial o sustancia	Efecto sobre la fagocitosis <sup>b, c</sup>	Aceite esencial o sustancia	Efecto sobre la fagocitosis <sup>b, c</sup>
Acetato de bornilo	21,3±2,6 *	Limón ( <i>Citrus limon</i> )	-41,0±14,2 *
Árbol del té ( <i>Melaleuca alternifolia</i> )	-35,2±20,2 *	Niaulí ( <i>Melaleuca quinquenervia</i> )	-39,1±28,3 *
Cayeput ( <i>Melaleuca cajuputi</i> )	4,1±8,7 ns	Nuez moscada ( <i>Myristica fragans</i> )	-33,8±2,7 *
Cilantro ( <i>Coriandrum sativum</i> )	-12,8±2,2 ns	Orégano español ( <i>Thymbra capitata</i> )	-16,2±2,2 *
Clavo ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	-36,1±15,5 *	Carvacrol	-14,9±4,1 *
Eugenol	-29,4±5,2 *	Palmarosa ( <i>Cymbopogon martinii</i> )	-22,1±1,9 *
Enebro ( <i>Juniperus communis</i> )	nd <sup>d</sup>	Romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	-11,3±2,5 *
Estragón ( <i>Artemisia dracunculus</i> )	-12,9±1,4 ns	Tomillo rojo ( <i>Thymus zygis</i> )	-38,0±1,0 *
Jengibre ( <i>Zingiber officinale</i> )	-28,5±1,4 *	Timol	-72,2±25,0 *
Laurel ( <i>Laurus nobilis</i> )	-38,7±3,1 *		

<sup>a</sup> Concentraciones equivalentes a 44-58 µg/mL dependiendo del aceite esencial. <sup>b</sup> Valores positivos indican estimulación, mientras que los negativos indican inhibición. <sup>c</sup> Diferencias significativas (p<0,05). ns: Diferencias no significativas respecto al control. <sup>d</sup> nd: No disponible

La Tabla 1 y las Figuras 2, 3 y 4 muestran los resultados de actividad estimulante o inhibitoria sobre la fagocitosis. La única sustancia que mostró actividad estimulante fue el acetato de bornilo (21% a 56 µg/mL). Los aceites esenciales de cayeput, estragón y cilantro no mostraron actividad significativa. Los aceites esenciales de nuez moscada, clavo, niaulí, árbol del té australiano, hoja de laurel, limón, tomillo rojo, jengibre, el eugenol y el timol sobrepasaron el 25% de inhibición de la fagocitosis a la mayor concentración ensayada. El timol, principal constituyente del aceite esencial de tomillo rojo (57%) presentó la mayor actividad inhibitoria, con una IC<sub>50</sub> de 1,5 µg/mL. Esta reducción de la actividad fagocítica puede relacionarse con los

efectos antioxidante y antiinflamatorio previamente descritos [2, 3]. Algunos aceites esenciales, como los de jengibre y clavo, y componentes como el eugenol, habían mostrado un importante efecto inhibitor de la producción intracelular de ERO en neutrófilos humanos [4] y de NO (producido también por células fagocíticas) [5]. La inhibición de la fagocitosis de algunos aceites esenciales había sido descrita usando unas condiciones experimentales diferentes [6]. El modelo experimental utilizado en el presente trabajo permite estudiar el efecto directo sobre la capacidad fagocítica de neutrófilos humanos. El efecto inhibitor observado para numerosos aceites esenciales podría explicar en parte sus efectos antiinflamatorios y antioxidantes.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero brindado por la Lidervet S.L. (Tarragona, España). R. Pérez-Rosés fue financiado durante la investigación por la Generalitat de Catalunya y el Fondo Social Europeo.

## Referencias

- Risco E et al. (2003) *Planta Med.* 69: 785-794.
- Shan B et al. (2005) *J Agric Food Chem* 53: 7749-7759.
- Braga PC et al. (2006) *Pharmacology* 77: 130-136.
- Pérez-Rosés R et al. (2008) 39th ISEO, Quedlingburg (Germany).
- Pérez-Rosés R et al. (2009) 2º Congreso Iberoamericano de Fitoterapia, Lisboa (Portugal).
- Segura JJ et al. (1998) *Int Endod J* 31: 112-116.