

Evaluación Toxicológica *in vitro* e *in vivo* del Extracto Total de *Prosopis nigra*

Área del Conocimiento: Cs. Agropecuarias

Becario/a: CABROL, José Nicolás

Director/a: GARCIA, Enrique Nicolás

Autores: José Nicolás Cabrol; Soledad Bustillo, Torres Ana María, Cholich Luciana Andrea, García Enrique Nicolás

Facultad: Facultad De Cs. Veterinarias

E-mail: nicolas.cabrol.13@gmail.com

Objetivos

Evaluar la actividad citotóxica en una línea celular C2C12 y determinar la Dosis Letal 50 (DL50) del extracto total de vainas de *P. nigra* en ratón.

Materiales y Método

- Identificación taxonómica: *P. nigra* se recolectó desde la localidad de Resistencia en la provincia de Chaco. Fue identificada en el Instituto de Botánica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE-CONICET
- Obtención de extracto total de *P. nigra*: Se obtuvo a partir de vainas mediante una extracción ácido/básica (Figuras 2,3 y 4).
- Ensayos de citotoxicidad: Se utilizaron células miogénicas de la línea C2C12 (ATCC®: CRL-1772™).
- Se utilizaron las células obtenidas de monocapas subconfluentes. Las células resuspendidas se sembraron en placas de 96 pocillos, $1.5-2.5 \times 10^4$ células por pocillo, en el mismo medio de crecimiento (DMEM-SFB 5%). Al alcanzar la monocapa un 80% de confluencia, se retiró el medio de cultivo y diferentes concentraciones del extracto total de *P. nigra* (15-30-50-100 y 500 µg/ml), diluidos en el medio de cultivo suplementado con 5% de SFB fueron adicionados a las células en cultivo (200 µL/pocillo). Luego de 24 horas de incubación a 37°C y 5% de CO₂ en atmósfera húmeda, la viabilidad celular fue cuantificada por tinción con el colorante Cristal violeta. La citotoxicidad se determinó por comparación de las absorbancias resultantes con la absorbancia promedio de los pocillos utilizados como control (sin tratamiento, considerados como 100% de viabilidad) y fueron expresados como porcentaje de viabilidad celular. Los experimentos se realizarán por triplicado en al menos dos ensayos independientes.
- Toxicidad *in vivo* del extracto total de *P. nigra*: Se evaluó usando ratones de la cepa CF-1 machos jóvenes (3-4 semanas). El extracto total de vainas de *P. nigra* fue administrado por vía intraperitoneal (ip) y se ensayaron diferentes dosis de 9 a 12 mg/kg, el número de muertes fue registrado por 48 h. El cálculo del valor de la DL 50 se hizo mediante el método de Probit



Figura 1. Vainas y hojas de *P. nigra*.



Figura 2. Vainas de *P. nigra*, molidas para obtención del extracto.



Figura 3. Procesamiento para obtención de extracto total de *P. nigra*.



Figura 4. Extracto total de *P. nigra*.

Resultados y Discusión

- La citotoxicidad del extracto total de *P. nigra* se evaluó cuantitativamente mediante un ensayo de captación del colorante cristal violeta. Luego de 24 horas de exposición, el extracto indujo muerte celular dependiente de la dosis, siendo la viabilidad celular significativamente inhibida con respecto al control no tratado, a partir de la concentración de 30 µg/ml de extracto (Figura 5), siendo estadísticamente significativo desde la concentración de 50 µg/ml ($P < 0,05$).
- Esto concuerda con lo reportado en cultivo primario de células gliales, donde se demostró el efecto citotóxico del extracto de *P. nigra* mediante el ensayo rojo neutro. Otras especies de *Prosopis* demostraron efecto citotóxico en cultivos primarios y en líneas celulares.
- Para determinar la toxicidad aguda (DL50) del extracto de *P. nigra*, se inyectaron intraperitonealmente dosis de extracto total de 9 a 12 mg/Kg en ratones y se observó la letalidad dentro de las 48 h (tabla 1). La DL 50 calculada a partir del método Probit arrojó un valor de 10 mg/Kg.
- En nuestro estudio el extracto total de *P. nigra* demostró efectos tóxicos sistémicos en los ratones, con una DL50 de 10 mg/Kg, similar a la DL50 determinada en *P. juliflora* de 10,3 mg/kg. *Es necesario investigar el rol de los compuestos activos presentes en las vainas y determinar su actividad tóxica.*
- En conclusión las plantas son precursoras de la síntesis de fármacos y se utilizan en la alimentación de personas y animales en forma empírica. El conocimiento de los usos y efectos secundarios de las plantas proporciona una contribución vital para el cuidado de la salud humana y animal.

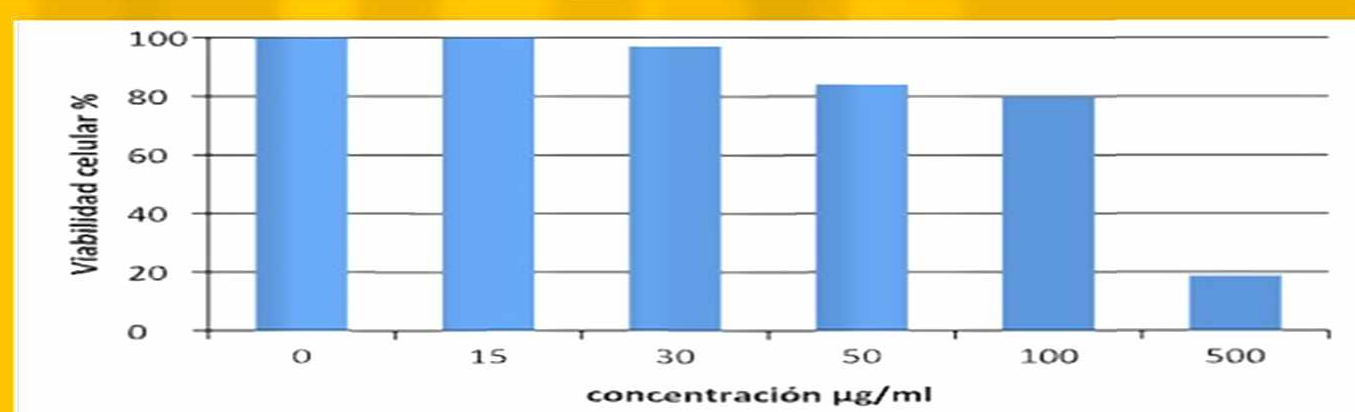


Figura 5. Disminución de la viabilidad celular de las células C2C12 luego de 24 h de incubación con el extracto de *P. nigra* (15 a 500 µg/mL); la exposición fue evaluada mediante un ensayo de captación celular con cristal violeta.

Dosis en mg/kg/Ip de ET	Nº de muertes/ experimental
9	0/4
9,5	1/4
10	2/4
10,5	4/4
12	4/4
0(DMSO)0,2%	0/4

Tabla 1. Diseño experimental para determinar la dosis letal 50 del extracto total de vainas de *P. nigra* usando el análisis Probit.