

# DERMIS ACELULAR PORCINA (*SUS SCROFA*) CARGADA CON ANTIOXIDANTES DE *LARREA DIVARICATA*

## PORCINE (*SUS SCROFA*) ACELLULAR DERMIS LOAD WITH ANTIOXIDANTS FROM *LARREA DIVARICATA*

A M STELLA \*, H MATTES FERNÁNDEZ \*\*, D ESTOMBA \*\*\*,  
H DRAGO \*\*\*\* y E MANSILLA \*\*\*\*\*

**SUMMARY:** The aim of the study was to evaluate loading with antioxidants from *Larrea divaricata* a porcine acellular dermis for therapeutic purposes, polyphenols and anthocyanins of pure extracts, isolated and absorbed in pig acellular dermis was evaluated.

The following values (total polyphenols and anthocyanins) were obtained: a) *Larrea divaricata*: 58,77 ± 1,55 mg gallic acid / 100 g fresh weight; 400,95 ± 9,55 mg cyanidin 3-glucosyde / 100 g fresh weight; respectively; b) porcine acellular dermis: 8,86 ± 0,55 mg gallic acid / 100 g fresh weight and 0,10 ± 0,00 mg cyanidin 3-glucosyde / 100 g fresh weight; respectively, c) *L. divaricata* absorbed in porcine acellular dermis: 45,92 ± 0,90 mg gallic acid / 100 g fresh weight and 155,92 ± 5,90 mg cyanidin 3-glucosyde / 100 g fresh weight, respectively.

We concluded that it is possible to get a porcine acellular dermis loaded with antioxidants from *Larrea divaricata* for medical purposes.

**KEY WORDS:** Polyphenols, anthocyanins, epidermal matrix, *Larrea divaricata*, antioxidants.

Rev Argent Dermatol 2007; 88: 236-239.

### INTRODUCCIÓN

La dermis o matriz acelular es tejido dérmico sin elementos celulares. Se emplea en la cicatrización de heridas. Las matrices dérmicas acelulares de mamíferos son inmunológicamente inertes, por no tener elementos celulares que generen rechazo de injerto <sup>1</sup>.

El género *Larrea* (*Zygophyllaceae*) está presente en todo el continente americano <sup>2</sup>. En la región de la estepa patagónica existen cuatro especies de este género, vulgarmente conocidas como "jarilla". Estas plantas tienen múltiples aplicaciones medicinales, siendo importante el uso dermatológico para la curación de lesiones cutáneas traumáticas, diversos tipos de dermatitis, así como antiséptico y antimicótico tópico <sup>3</sup>. Los antioxidantes flavonoides y lignanos son abundantes en sus hojas (Fig 1) <sup>4,5,6</sup>.

El objetivo del trabajo fue cargar con extractos antioxidantes de *Larrea divaricata* una dermis acelular porcina (*Sus Scrofa*) para propósitos terapéuticos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

*Larrea divaricata* fue cultivada *in vitro* en el Laboratorio de Propagación Vegetativa del Asentamiento Universitario de San Martín de los Andes, Universidad Nacional del Comahue. Los cultivos se iniciaron a partir

\* Laboratorio de Ecoporfirinas. Profesor Adjunto. Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Investigador del CONICET. e-mail: anamariastella@ecoporfirinas.com.ar.

\*\* Profesor de Fisiología Vegetal y Secretario de Investigación del Asentamiento Universitario de San Martín de los Andes. Universidad del Comahue. email: hermanmattes@yahoo.com.ar.

\*\*\* Investigador del Asentamiento Universitario de San Martín de los Andes. Universidad del Comahue. email: diegoestomba@yahoo.com.

\*\*\*\* Médico Cirujano del Hospital del Quemado. Buenos Aires. e-mail: hdrago@fibertel.com.ar.

\*\*\*\*\* Jefe de Banco de Tejidos del Hospital del Quemado. Médico Cirujano Plástico.

e-mail: edmansil@netverk.com.ar.

TABLA I

**CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ANTOCIANINAS EN DERMIS ACELULAR PORCINA CARGADA CON POLIFENOLES Y ANTOCIANINAS DE *LARREA DIVARICATA*. DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ( $P < 0,05$ ) ESTÁN INDICADA CON LETRAS DIFERENTES**

	POLIFENOLES TOTALES (*)	ANTOCIANINAS (**)
Dermis acelular porcina + <i>Larrea divaricata</i>	45,92 + 0,90a	155,92 + 5,90B
Dermis acelular porcina	8,86 + 0,55c	0,10 + 0,00C
<i>Larrea divaricata</i> .	58,77 + 1,55b	400,00 + 9,55A

(\*) Expresados en mg de ácido gálico / 100 g de peso fresco.

(\*\*) Expresados en mg de cianidina 3-glucósido / 100 g de peso fresco.

de ápices de plántulas obtenidas por germinación *in vitro* en un medio de Murashige & Skoog <sup>7</sup> suplementado con 6-bencil amino purina (2,219  $\mu\text{M}$ ) y ácido naftalén acético (0,053  $\mu\text{M}$ ) e incubados en cámara de cultivo bajo luz fluorescente (45  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), a 25-28 °C, fotoperíodo de 16:8 (Fig 1). Las semillas fueron suministradas por la Cátedra de Botánica General de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue.

La dermis acelular porcina (*Sus Scrofa*) esterilizada por radiación gama se obtuvo de acuerdo a la metodología seguida por Drago y col <sup>1</sup>.

Para la determinación de antocianinas y polifenoles, en dermis acelular porcina en presencia de *Larrea divaricata*, se procedió de la siguiente forma: 2g de dermis acelular

porcina se homogeneizaron con 0,5 g de la parte aérea del cultivo *in vitro* de *Larrea divaricata* con Metanol- HCl (95:5; v:v). Los homogenatos se centrifugaron a 5000 x g, durante 30 minutos a 5°C. El contenido de polifenoles totales se determinó en los sobrenadantes de centrifugación, empleando el reactivo de Folin - Ciocalteau y solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Las antocianinas se cuantificaron por pH diferencial según la técnica descrita por Benvenuti y col <sup>8</sup> y Giusti y Wrolstad <sup>9</sup>. En ambos casos se midió la absorbancia empleando un espectrofómeto Beckman serie D500.

Asimismo, se determinaron los polifenoles totales y antocianinas en: dermis acelular porcina (2,0 g) y en parte aérea del cultivo *in vitro* de *Larrea divaricata* (0,5 g) respectivamente.

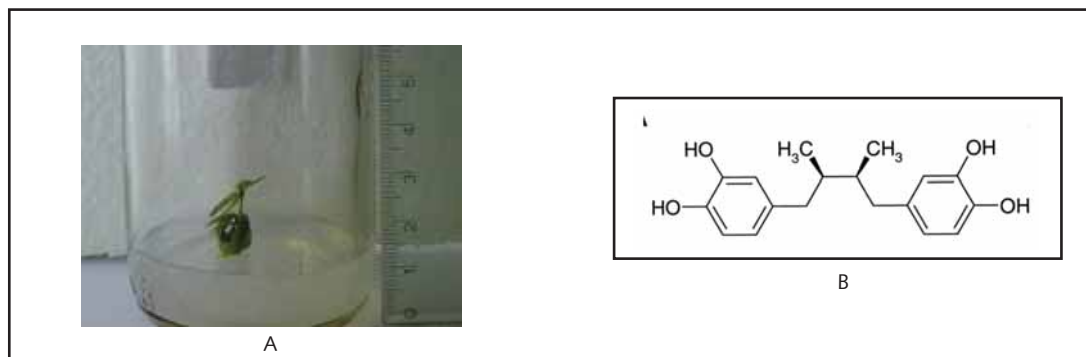


Fig 1: *Larrea divaricata* cultivada *in vitro* (A). Antioxidantes (ácido Nordihidroguayaráetico) (B) presente en la parte aérea de *L. divaricata* <sup>6</sup>.

Los análisis estadísticos se realizaron con todos los datos, empleando un diseño experimental completamente aleatorizado. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y para detectar diferencias se usó la prueba de Tukey HDS ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Larrea divaricata* enriqueció con antioxidantes la dermis acelular porcina (Tabla I). Si bien aumentó el contenido de polifenoles totales (52 veces), las antocianinas superan ese incremento (4724 veces).

En las condiciones de trabajo, la dermis acelular cargó el 78% y 39% de polifenoles totales y antocianinas de *Larrea divaricata*, respectivamente (Tabla I).

En los procesos de reparación de cutánea los antioxidantes juegan un papel destacado, aumentando la proliferación de fibroblastos<sup>10</sup>. Por lo que en la curación de heridas profundas, el empleo de la dermis acelular cargada con polifenoles y antocianinas de *Larrea divaricata*, podrían estimular y/o proteger a las células sembradas o aplicadas en finas láminas de autoinjerto con fines terapéuticos.

## RESUMEN

Con el objeto de cargar con antioxidantes de *Larrea divaricata* una dermis acelular porcina para propósitos terapéuticos, se determinó el contenido de polifenoles y antocianinas de extractos puros, aislados y absorbidos en una dermis acelular porcina.

Los valores para polifenoles totales y antocianinas fueron: a) *Larrea divaricata*:  $58,77 \pm 1,55$  mg ácido gálico / 100 g peso fresco,  $400,00 \pm 9,55$  mg cianidina 3-glucósido / 100 g peso fresco, respectivamente, b) dermis acelular porcina:  $8,86 \pm 0,55$  mg ac. gálico / 100 g peso fresco y  $0,10 \pm 0,00$  mg cianidina 3-glucósido / 100 g peso fresco; respectivamente, c) *Larrea divaricata* absorbida en dermis acelular porcina  $45,92 \pm 0,90$  mg ácido gálico / 100 g peso fresco y  $155,92 \pm 5,90$  mg cianidina 3-glucósido / 100 g peso fresco, respectivamente.

Nosotros concluimos que es posible tener una dermis acelular porcina cargada con antioxidantes de *Larrea divaricata* para propósitos médicos.

## PALABRAS CLAVE

Polifenoles, antocianinas, matriz epidérmica, *Larrea divaricata*, antioxidantes.

## REFERENCIAS

- 1) Mansilla E, Arrua J, Salas E, Gardiner C, Marchessi N, Manfredi D, Schreiner A, Mosquera R, Gil MA, Gardenal L, Ball Lima M, Marin G, Drago H, Sturla F, Menna ME, Sorratti C y Piccinelli G. The Derma Project: present and future possibilities of skin procurement for the treatment of large burns in Argentina, Tissue Engineering and the Cadaver Skin Bank. *Transplant Proc* 2001; 33 (1-2): 637-639. PMID: 11266994 [PubMed - indexed for MEDLINE].
- 2) Lourteig A. *Zygophyllaceae*. In: M N Correa. Flora Patagónica. Parte V. Dicotyledones dialipétalas (Oxalidaceae a Cornaceae). Colección científica del I.N.T.A, BuenosAires. 1988; 50-54.
- 3) Ratera EL y Ratera MO. Plantas de la Flora Argentina empleadas en medicina popular. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. 1980; 122-175.
- 4) Torres R, Urbina F, Morales C y col. Antioxidant Properties of Ligands and Ferulic Acid from the Resinous Exudate of *Larrea nítida*. *J Chil Chem Soc* 2003; 48: 3.
- 5) Anesini C, Turner S y Borda E. Effect of *Larrea divaricata* Cav. extract and nordihydroguaiaretic acid upon peroxidase secretion in rat submandibular glands. *Pharmacol Res* 2004; 49 (5): 441-448.
- 6) Meyer GE, Chesler L, Liu D, Gable K, Maddux BA, Goldenberg DD, Youngren JF, Goldfine ID, Weiss WA, Matthey KK y Rosenthal SM. Nordihydroguaiaretic acid inhibits insulin-like growth factor signaling, growth, and survival in human

- neuroblastoma cells. *J Cell Biochem* 2007; 7 [Epub ahead of print].
- 7) Murashige Y y Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 1962; 15: 473-497.
- 8) Benvenuti S, Pellat J F, Melegari M y Bertelli D. Polyphenols, antocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes* and *Aronia*. *Journal of Food Science* 2004; 69 (3): 164 - 169.
- 9) Giusti MM y Wrolstad RE. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. In: Wrolstad RE y col Editores. *Current protocols in food analytical chemistry*. New York: John Wiley and Sons. 2001; 1-13.
- 10) Thang PT, Patrick S, Teik LS y Yung CS. Anti-oxidant effects of the extracts from the leaves of *Chromolaena odorata* on human dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes against hydrogen peroxide and hypoxanthine-xanthine oxidase induced damage. *Burns* 2001; 27 (4): 319-27.

#### AGRADECIMIENTO

Se agradece la colaboración en las determinaciones químicas de la Lic. Karina Lobasso.