

6

EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA PLACENTA HUMANA: COMPOSICIÓN QUÍMICA Y POSIBLES APLICACIONES*

Claudia Restrepo, Mónica Henao, Lina Álvarez y Jorge Zapata**

RESUMEN

En algunos países se adelantan trabajos de investigación en el desarrollo y utilización de materiales biológicos que pueden contribuir al mejoramiento de ciertas enfermedades y a brindar un valor agregado a estos compuestos que se consideran un desecho.

Es el caso de la Placenta Humana, que en Colombia no ha tenido una aplicabilidad y desarrollo, por el contrario es desechada y enterrada. Países como Cuba han involucrado el tratamiento y terapia de algunas enfermedades con extractos de placenta humana, aprovechando su inmenso potencial como un medicamento natural y altamente efectivo.

Se propone un método experimental para la obtención de un extracto alcohólico como fuente de grasas y/u hormonas, que eventualmente pueden servir como materia prima para productos cosméticos y de terapias para algunas enfermedades humanas.

* Trabajo realizado con la colaboración del Centro de Investigaciones en Salud de la Clínica Universitaria de la Universidad Pontificia Bolivariana, del Instituto Colombiano de Medicina Tropical, del Hospital General de Medellín y de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia S.A.

** Estudiantes de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia S.A.

Separatas: Circular 1º No. 70 - 01, e-mail: jorgez@logos.upb.edu.co - Medellín - Colombia.

Con los ensayos ejecutados se logró obtener una serie de extractos que, dependiendo de su uso, pueden presentar un posible desarrollo de compuestos bioactivos para las industrias cosméticas y farmacéuticas.

Palabras clave: Placenta, Extracción, Lípidos, Hormonas, Progesterona, Colesterol, Triglicéridos, Estradiol.

ABSTRACT

Some countries have advanced in development and utilization of biological materials to contribute for the improvement of certain illnesses and for give a special value to these compounds, that have been considered as residues.

It is the case of human placenta, that in Colombia hasn't had an applicability, otherwise it is rejected and buried. Countries like Cuba have introduced treatments and therapies for some illnesses with human placental extracts, to profit by its potential as an effective and natural medicine.

An alcoholic human placental extract has been developed as lipids and hormones source that eventually could be used for cosmetic products and therapies for human illnesses.

In the executed trials, some extracts have been obtained and depending on their use, could represent a possible development of bioactive compounds for cosmetic and pharmaceutical industry.

Key words: Placenta, Extraction, Lipids, Hormones, Progesterone, Colesterol, Triglycerides, Estradiol.

Materiales

1. Placenta humana fresca sin congelar. (Proporcionada por pacientes del Hospital General de Medellín, a través del Instituto Colombiano de Medicina Tropical-ICMT).
2. Vidriería en general.
3. Material de cirugía.
4. Materiales generales.
5. Centrífuga.
6. Tubos de centrífuga. (10 ml).
7. Equipo de seguridad: Guantes de látex, delantal de plástico, tapabocas, pantalla protectora, gafas de seguridad, bolsas rojas para descarte de material biológico, guardián para descarte de material cortopunzante.
8. Equipo de refrigeración. Nevera a 4° C.
9. Balanza: Triple braza, marca: OHAUS FLORHAM PARK, N. J.07932 U.S.A., REFERENCIA: U.S. PAT. No 2.729.439., Capacidad: 5 libras a 2 oz, serie 800.

Reactivos

1. Hipoclorito de Sodio para descarte final (Límpido JGB 5.25% v/v).
2. Azida de Sodio 10% p/p.
3. Etanol 96% v/v (Utilizado en todos los ensayos).
4. Agua destilada.

Metodología

El método de extracción alcohólica se realizó en dos sistemas: Tejido externo – Etanol al 96% (a 4° C durante 24 horas) y suero placentario – Etanol al 96% 1:1 (a 0° C con agitación esporádica), ajustado a un procedimiento de acuerdo con normas de bioseguridad establecidas por el Ministerio de Salud de Colombia. Los análisis químicos realizados a las muestras resultantes de la experimentación se hicieron con los métodos estándar por un laboratorio clínico especializado.

Debido a algunos reportes científicos que incentivaron nuestro interés para investigar la composición del suero placentario y del extracto alcohólico en cuestión, presentamos en este artículo la obtención de un extracto de placenta humana que eventualmente puede emplearse como componente de productos cosméticos. Con posteriores investigaciones podrá definirse la utilidad del extracto en usos terapéuticos en humanos.

En dos etapas se describirá cómo se obtuvo el suero placentario y cómo se procedió a la elaboración del extracto alcohólico.

1. La obtención del suero se hizo con suma delicadeza con el fin de reducir al mínimo la hemólisis; por esto el tratamiento fue suave y se inició pinzando el cordón umbilical y pesando la placenta fresca (en un tiempo no mayor a 1 hora después del parto), luego se le retiró el tejido externo y se prosiguió a la maceración del órgano para dejarlo drenar en un recipiente durante 24 hr. a 4° C. Por otro lado en un recipiente se dejó en contacto el tejido externo con Etanol al 96%, también durante 24 hr.

a 4° C; cumplido este tiempo, se recogió el líquido drenado y se separó centrifugando como se hace habitualmente con el suero sanguíneo.

2. La segunda etapa fue la obtención del extracto alcohólico, para la cual fue relevante la correcta selección de un solvente afín a lo que se buscaba o se sospechaba encontrar.

En el caso aquí expuesto se utilizó como solvente extractor Etanol de alta pureza, por su afinidad con las grasas; se hubiera podido utilizar el sistema Cloroformo – Metanol, que es altamente eficiente, pero para aplicación directa sería poco recomendable dada su toxicidad, lo cual implica una recuperación del solvente luego de la extracción.

Basados en la buena solubilidad de los lípidos en el Etanol a baja temperatura, se realizó la extracción líquido-líquido.

El sistema suero placentario .- Etanol se dejó en contacto durante dos horas a 0°C en relación 1:1 con agitación esporádica, el cual presentó un aspecto grumoso, que con la agitación se homogenizó (Muestra 1). Este líquido se centrifugó, y se extrajo el sobrenadante resultante el cual tenía un color amarillo traslúcido (Muestra 2) y un precipitado muy compacto (Muestra 3).

El otro sistema tejido externo – Etanol que se había dejado durante 24 horas, presentó un líquido (Etanol) teñido y con sólidos, el cual se filtró y se obtuvo una muestra (Muestra 4).

Anexo a este procedimiento se analizó:

1. El suero de una placenta (Muestra 5), obtenido de acuerdo con el paso 1, con

el fin de determinar su contenido químico y compararlo con la muestra 1.

2. Una loción cubana con extracto alcohólico (50%) de placenta humana (Muestra 6) para el vitiligo.
3. Una ampollita norteamericana para el cabello, con extracto de placenta (Muestra 7).

Resultados

La composición de las muestras es presentada en la Tabla 1.

Análisis de resultados

La progesterona de las muestras provenientes del suero placentario es en general muy baja; en la muestra 2 no pudo ser leída por el equipo debido a la poca cantidad que de esta sustancia contiene.

Esto es normal, ya que aunque las hormonas aumentan durante el embarazo, la progesterona cae a valores muy bajos en el momento del parto. Así pues, queda justificada la baja cantidad de progesterona en las muestras alcohólicas provenientes del suero placentario (1, 2 y 3). La muestra 5 que pertenece al suero placentario solo, es decir libre de solvente extractor refleja esta misma situación, ya que el valor reportado en el análisis es muy inferior al rango (83.1-160 ng/ml) determinado para el último trimestre de embarazo; esto muestra claramente el descenso de la progesterona en el parto. A diferencia de los bajos niveles de progesterona encontrados en las muestras 1, 2 y 3 que provienen del suero placentario, la muestra 4 que es el extracto alcohólico que proviene del tejido presen-

ANÁLISIS	MUESTRA1	MUESTRA2	MUESTRA3	MUESTRA4	MUESTRA5	MUESTRA6	MUESTRA7
Colesterol Total (mg/d)	149	130	165.00	17.00	135	31.00	11.00
Colesterol de baja densidad (LDL) (mg/dl)	Nose analizó	3.00					
Colesterol de muy baja densidad (VLDL) (mg/dl)	80.40	65.40	Nose analizó	42.80	41.00	Nose analizó	Nose analizó
Colesterol de alta densidad (HDL) (mg%)	Nose analizó	10.00	Nose analizó				
Fósforo sérico (P) (mg/dl)	14.89	18.33	Nose analizó	10.94	42.4	7.70	4.33
Glicemia (mg/dl)	221.00	156.00	Nose analizó	20.00	Nose analizó	22.00	20.00
Proteínas totales (gr %)	3.50	0.99	Nose analizó	0.62	6.3 gr./dl	Nose analizó	Nose analizó
Triglicéridos (mg/dl)	507.00	327.00	479.00	214.00	408.00	70.00	10.00
Estradiol (pg/ml)	20.00	2000.00	Nose analizó	2000.00	207.00	—	427.00
Progesterona (ng/ml)	1.10	—	Nose analizó	120.00	11.80	—	4.40

Tabla 1. Resultados del análisis de laboratorio clínico

ta alto nivel de progesterona, lo que conduce a pensar que esta progesterona ausente en el suero es retenida por el tejido en el momento del parto.

El estradiol por su parte, se encuentra en abundancia en las muestras 2 y 4 y casualmente presentan el mismo valor. La muestra 2 es el sobrenadante que resulta de centrifugar la muestra alcohólica madre (muestra 1) y presenta en el reporte de resultados un valor aparentemente mayor que la muestra 1 que la contiene; es decir, si se mira rápidamente, la muestra 2 parece tener un contenido mayor de estradiol que la muestra 1 de la cual proviene. Lo que ocurre es que las unidades para determinar la composición están referidas a la concentración (pg/ml), que son unidades intensivas. Al centrifugar lo que se hace es concentrar picogramos (pg.) en la misma unidad de volumen aprovechando las densidades de los componentes; por eso aunque la cifra de la muestra 2 es numéricamente mayor, no quiere decir que tenga mayor cantidad de estradiol, que la muestra 1, pues el sistema es cerrado, no hay generación ni consumo de estradiol, además en la centrifugación no hay pérdidas considerables, lo cual converge para afirmar que lo que ocurre es que hay en la muestra 2 más estradiol por unidad de volumen. La comprensión de esto es preponderante para la acertada interpretación de los resultados obtenidos. Por la densidad del estradiol al centrifugar la muestra 1, éste se acumula en el sobrenadante o muestra 2. En la muestra 3 no se analizó porque volviendo sobre el sistema cerrado, el estradiol que no está en el sobrenadante, está en el fondo (muestra 3). Sin embargo, lo más relevante aquí es que una sustancia como la muestra 2 tiene simultáneamente

las cualidades de poseer una apariencia agradable y abundancia en estradiol; aunque la muestra 4 tiene la misma concentración de estradiol que la muestra 2, su apariencia es rojiza y presenta menor cantidad de otras sustancias de interés.

Se obviaron algunos análisis para la muestra 3 (o precipitado proveniente de la solución madre) por la razón antes expuesta y por la búsqueda en el transcurso del procedimiento de un producto con buen contenido químico pero de aspecto agradable; el precipitado es muy compacto y de color lechoso, con un contenido en grasas cercano al sobrenadante que tiene un color amarillo translúcido más favorable para los propósitos buscados. Ahora, si se compara la concentración de estradiol de la muestra 5 que no es más que un suero placentario proveniente de una placenta cualquiera y la muestra 1 que es el resultado de poner en contacto el suero placentario con Etanol al 96%, se observa en esta última muestra una baja de concentración de estradiol; es obvio, pues aunque aquí tampoco hay generación ni consumo de estradiol, si hay un cambio de volumen del sistema, pues al suero inicial con su contenido fijo de estradiol se le ha adicionado Etanol al 96 % como solvente, lo cual diluye el estradiol en un volumen mayor. Esto para explicar el cambio de concentración de la muestra 5 a la muestra 1. Ahora, si esta última se centrifuga, por la densidad de las partículas se da una aglomeración de éstas por unidad de volumen, provocando así las altas concentraciones de las muestras 2 y 3.

Cuando se dice que las muestras tienen buena cantidad de hormonas, es con respecto a los valores habituales y consideran-

do las bajas cantidades que de éstas se utilizan en la elaboración de cosméticos. Aunque su uso ha sido controvertido, Goldzieher, et al. (1946), muestran que la aplicación tónica en bajas concentraciones favorece la piel.

Las muestras 6 y 7 que son productos comerciales, presentan una diferencia importante entre ellas. A la muestra 6 que es una loción cubana al 50% para el tratamiento del vitiligo no se le detectó contenido hormonal. La muestra 7 que es una ampollita para el tratamiento del cabello si presenta estradiol y progesterona; su contenido en concentración es aproximadamente 90% menor a las muestras propuestas en el experimento.

Analizando el contenido de las muestras se verifica que el líquido (muestra 1) posee una baja cantidad de proteínas y al centrifugar la mayoría se precipitan. El sobrenadante (muestra 2) queda con una reducida fracción de éstas debido a la velocidad de centrifugación, la cual es una variable importante a considerar; si se desea un sobrenadante clarificado de buen aspecto pero con mayor cantidad de proteínas deben hacerse ensayos para encontrar este punto, variando la velocidad de centrifugación sin desconocer la alta densidad de las proteínas que en presencia de Etanol tienden a precipitarse.

De antemano se sabía que el extracto sería rico en grasas debido a la naturaleza del solvente y a la temperatura de extracción. La muestra 1 es la solución que contiene la totalidad o casi la totalidad de los componentes solubles en Etanol; es lógico que al centrifugar lo más denso se vaya para el fondo, de este modo los lípidos según su orden de densidades obedecen este princi-

pio, por eso cuando se van a clasificar se varía la velocidad de centrifugación para fraccionarlos y observar las diferentes capas; al aumentar la velocidad de la centrifuga, se logra un mejor aspecto del sobrenadante pero se sacrifica su contenido, pues se envían al fondo sustancias de interés. Al centrifugar la muestra 1 el precipitado queda con mayor cantidad de colesterol y triglicéridos que el sobrenadante aunque no con mucha diferencia, aún así el sobrenadante tiene una cantidad considerable de colesterol y triglicéridos teniendo como base los correspondientes contenidos de los productos comerciales analizados que tienen aproximadamente un 85% menos de concentración de estos lípidos que el extracto propuesto. Seguramente han sido diluidos en el momento de ser envasados.

El extracto proveniente del tejido no presenta una abundancia pronunciada en estos lípidos; parece que el tejido medianamente almacena este tipo de grasas. El suero placentario como tal, presenta una cantidad apreciable de colesterol y triglicéridos, el Etanol al 96% en frío parece cumplir eficientemente su misión extractora, pues la muestra 1 evidencia un valor muy cercano en colesterol y triglicéridos al valor de un suero placentario promedio. Aunque a algunas muestras se les analizó colesterol de baja densidad (LDL), de muy baja densidad (VLDL) o de alta densidad (HDL), lo importante es que el colesterol total es útil como emoliente y el valor de interés es el colesterol total de las muestras. El extracto propuesto en este proyecto se hace con Etanol casi puro con el fin de que la extracción sea lo más eficiente posible contando con la gran afinidad de este alcohol con los

lípidos y considerando una dilución posterior del extracto para alcanzar una concentración que no irrite la piel a al ser aplicado y al mismo tiempo con la posterior dilución se busca disminuir la volatilidad del Etanol de modo que alcance a penetrar la piel sin evaporarse antes.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran dos aspectos interesantes. El primero, que los extractos provenientes del suero placentario y del tejido externo presentan un contenido considerable de lípidos y hormonas teniendo en cuenta su aplicabilidad en los productos cosméticos; el segundo es que el Etanol al 96% y en las condiciones del experimento es altamente eficiente para su extracción.

De acuerdo con los resultados que se presentan en este método de extracción, se recomienda la muestra 3 como producto final, ya que su apariencia es agradable y su contenido es abundante en lípidos.

Debido a que los procesos de extracción dependen de múltiples variables como: la temperatura a la cual se hace la extracción, el tiempo de residencia con el solvente extractor, la concentración de éste, la velocidad de centrifugación etc.; el experimen-

to aquí presentado es sólo una posibilidad que podría someterse a diversas modificaciones en busca de mejorar la eficiencia, la apariencia o la composición del producto dependiendo de la prioridad que se tenga.

Es importante tener en cuenta que hay riesgo de patógenos en el extracto, pues si bien el Etanol es preservante, no elimina la posibilidad de la presencia de virus. Para erradicar estos patógenos habría que hacer una ultracentrifugación, al realizarle un tratamiento al extracto en el autoclave o con ataque químico. Aquí no se hizo ninguno de esos procedimientos porque aún no se ha investigado sobre las repercusiones de cada método.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de nuestro coordinador, el Ingeniero Químico Jorge Ignacio Zapata Urrea, la valiosa asesoría de la Dra. Astrid Montoya R. y del Dr. Marcos Restrepo I., la incondicional ayuda del personal del Centro de Investigaciones en Salud de la Clínica Universitaria de la Universidad Pontificia Bolivariana, del Instituto Colombiano de Medicina Tropical, del Hospital General de Medellín y de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Pontificia Bolivariana. ■

REFERENCIAS

1. Pranjnamoy, Pal et al. Hydroalcoholic Human Placental Extract: Skin Pigmenting Activity and Gross Chemical Composition. En: International Journal of Dermatology, Philadelphia: vol 34. No. (January 1995), p 61-66.
2. Murray, Robert K. Bioquímica de Harper. Colombia. Décima Edición. Editorial el Manual Moderno S.A. 1994, p 289-293.
3. Lehninger, Albert L. Bioquímica las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular Barcelona. Ediciones Omega S.A., Segunda Edición. 1991. p 308-309.
4. Azambuja, RD. Melagenina and Vitiligo. En: Dermatology. New York. Vol. 184. No. 1 (1992), p. 153-155.
5. Botero Uribe, Jaime Jubiz Hasbún, Alfonso y Henao, Guillermo. Obstetricia y Ginecología. Colombia: Carvajal S.A., vol 1. P 52-56, 1987.
6. Dornal. Diccionario Enciclopédico Ilustrado. Madrid: 26 edición. Interamericana-McGraw-Hill, 1987.
7. Stewart Taylor, E. Obstetricia de Beck. México. Interamericana, 1971. P 49-67.
8. Martínez, Eduardo, et al. Efecto Tensoactivo de los Fosfolípidos Placentarios. En: Revista Cubana de obstetricia y Ginecología. Cuba: año 14. No 1 (Enero-Marzo 1988), p 26-31.
9. Goldzieher, M.A., et al. The Effects of Estrogens on Senile Skin. Journal of Gerontol. 1946. Pag: 196.
10. Balsam, M.S.; Gershon, S.D.; Rieger, M.M.; Sagarin, E. Cosmetics-Science and Technology. 2 da. Edition. Vol 1. Editorial Board. New York, 1972. 105 p.