Aproximación a la identificación de los alérgenos volátiles de *Lithraea molleoides* ("aruera"): desde el folklore a la investigación científica

Manuel Minteguiaga

PDU Espacio de Ciencia y Tecnología Química, CENUR Noreste/Sede Tacuarembó, Universidad de la República

Introducción:

La alergia causada por los árboles conocidos como "arueras" o "arueras malas" (Lithraea molleoides y Lithraea brasiliensis, familia Anacardiaceae) es un fenónemo folklórico muy conocido en el Uruguay. Granada (1896) [1] comenta: "...los efluvios de la aruera excitan de tal manera la sangre en algunas personas, con solo pasar por debajo de ella y aún con solo acercársele, que las enferma de un modo alarmante..." y complementa "...el paisano contempla en esta (nota del autor: aruera) la personificación de un ser maléfico, dotado de inteligencia y voluntad para hacer daño...". Bouton (1961) [2] también relata: "...los indígenas miraban a este árbol con terror supersticioso y nuestros mismos paisanos, lo temen con exageración..." y "... las personas que permanecen largo rato debajo de estos árboles, acaban por sentir un malestar extraño, un aniquilamiento de fuerzas...". Además Bouton cometa: "...es posible que tales efectos deban atribuirse a la emanación de una sustancia producida por este vegetal en las horas de mucho calor y máxime cuando la atmósfera se halla cargada de humedad...", y prosigue "...los jardineros (nota del autor: personas afectadas) ... aseguran haber visto "salir humo" de los cortes que efectuaban en la aruera..." [2]. Por su parte, una "simpatía" destaca en el ámbito rural como efectiva para la cura y la prevención del "mal": "...saludar... con gran respeto, como si se presentase delante de la divinidad..." a una rama cortada o a los mismos árboles de manera reversa al período del día ("...buenas tardes, señora aruera..." para la mañana, y al contrario) [1,2]. También se citan otros tratamientos caseros como "...una fricción de caña, ó un baño tibio de *salmuera...*" [1].

Todo lo anterior da cuenta de una creencia popular muy arraigada unida a un problema de salud pública, que ha recibido poca atención desde el punto de vista científico, tanto en la identificación de las causas como en el tratamiento de los casos de alergia. De hecho, la unica publicación cientifica sobre este tema (tanto en el país como en la región) presenta el reporte de 4 componentes químicos de cadena larga del tipo alqu(en)il-catecol como responsables de la alergia de contacto atribuida a estas especies (Alé *et al.*, 1997) [3]. Sin embargo, desde el punto de vista fisicoquímico, dichos componentes identificados no son volátiles, por lo que no serían *a priori* los responsables de las afectaciones a distancia relatadas, lo que denota una falta de conocimiento en torno a ésta problemática. En la actualidad el tratamiento farmacológico recomendado para los casos de afectación son antialérgicos genéricos del tipo clorfenamina y prednisona (S. Alé, *com. pers.*), habiendo ausencia de un tratamiento específico al no conocerse completamente las causas.

De esta manera, el objetivo de este trabajo fue generar información en torno a los alérgenos volátiles de *L. molleoides*, tanto respecto a su presencia en el material vegetal y su identidad química como su potencialidad de atravesar la piel en un modelo *in-vitro*.

Materiales y Metodos:

Como parte de los estudios preliminares que se han venido desarrollando sobre L. molleoides colectada de los departamentos de Tacuarembó y Rivera [4-8], se obtuvieron partes aéreas (hojas, tallos y frutos) y se realizaron estudios morfoanatómicos e histoquímicos, en particular buscando los sitios de biosíntesis de componentes volátiles (aceites esenciales, AEs: terpenos y terpenoides) mediante el colorante específico naftol/N,N-dimetil-p-fenilendiamina (NaDi) y el genérico Sudan IV [4,5]. Asimismo, el material vegetal fue sometido a extracción de volátiles mediante protocolos previamente publicados de: i) hidrodestilación (obtención de AEs), ii) micro-extracción en fase sólida (obtención de la atmósfera circundante al material), y iii) extracción en fase sólida con y sin empleo de la enzima glucosidasa (obtención de las fracciones ligadas y libres de los frutos, respectivamente). Los análisis químicos fueron realizados mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas convencional y enantioselectiva (GC-MS y eGC-MS), empleando para la separación e identificación de los componentes volátiles diferentes condiciones analíticas (fases estacionarias y programaciones de temperaturas) [4-8]. Asimismo, los AEs fueron sometidos ensayos in-vitro de permeación con modelo de piel de cerdo (celda de Franz) y posterior identificación de los componentes permeados por GC-MS [9], para estudiar el potencial de los componentes volátiles de *L. molleoides* de atravesar la piel humana.

Resultados y Discusión:

Tanto en hojas como en frutos y tallos de *L. molleoides* se identificaron estructuras con funcionalidad secretora (tricomas glandulares y ductos), con un contenido consistente con AEs y lípidos. En particular, los tricomas al encontrarse directamente en la superficie de los órganos vegetales (interfaz con el ambiente) son compatibles con la liberación de componentes volátiles a la atmósfera, de particular interés para los casos de alergia por contacto y a distancia. El análisis químico de los componentes volátiles de *L. molleoides* permitió identificar al menos 26 inductores de alergia citados en la literatura (incluyendo la presencia de varios pares de enantiómeros) [10]; siendo mirceno, limoneno, α- y β-pineno, β-cariofileno, linalol, α-terpineol, acetato de geranilo, alcohol bencílico, salicilato de metilo, alcohol fenetílico y eucaliptol algunos de los componentes más abundantes en AEs, atmósferas circundantes y fracciones libres/ligadas [4-8]. Por otra parte, se observó una importante variación en la expresión de volátiles en diferentes épocas del año y localidades de colecta, así como entre individuos, e incluso, entre hojas de un mismo individuo, lo que denota una plasticidad importante para la especie. Finalmente, los ensayos de permeación permitieron confirmar que varios de los componentes anteriormente mencionados fueron capaces de atravesar la piel de cerdo, con especial destaque para el eucaliptol, β-pineno y mirceno.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos, pero principalmente el trabajo realizado aportan a la discusión y actualización de una problematica considerada como creencia y restricta en buena medida a los ámbitos rurales del país, que ha recibido escasa atención en los ambientes académicos. Al decir de

Granada: "...la causa originaria del mal encierra a los ojos del paisano un misterio impenetrable..." [1]. El presente trabajo continuo, multidisciplinario y colaborativo puede arrojar luz sobre este tema relevante pero poco estudiado. Se continuará evaluando la información obtenida de manera de sistematizarla como publicación científica arbitrada.

Agradecimientos:

CSIC-UdelaR y equipo del Proyecto CSIC I+D 2020-189: L. Profumo, Y. Balsamo, S. Alé, Y. Vega, C. Rodríguez-Rego, E. Fagúndez, P. Basile, F. Wallace, C. Olivaro, F. Ferreira, R. Curbelo, E. Dellacassa, C. Fontana, M.I Mercado, P. López, A. Catalano. ANII y equipo de pasantía MOV_CA_2021_1_171508 en UniTo (Italia): M. Pavarino, G. Bechis, P. Rubiolo, M. Argenziano, R. Cavalli, C. Cagliero, B. Sgorbini.