

EFFECTO HEMOLÍTICO EN ERITROCITOS HUMANOS AISLADOS POR UN EXTRACTO DEL HONGO DE IMPORTANCIA MÉDICA *CHLOROPHYLLUM MOLYBDITES*

HEMOLYTIC EFFECT ON HUMAN ERYTHROCYTES ISOLATED BY AN
EXTRACT OF THE MEDICALLY IMPORTANT FUNGUS *CHLOROPHYLLUM*
MOLYBDITES

LIZZY GUISASOLA
TENORIO¹

ALEJANDRA FERNÁNDEZ
MENDOZA¹

CRISTINA REYES GARZA¹

ANA C. CEPEDA NIETO²

ALEJANDRO ZUGASTI CRUZ¹

.1 Facultad de Ciencias
Químicas, Unidad Sureste,
UAdeC.

2. Facultad de Medicina
Químicas, Unidad Sureste,
UAdeC.

RESUMEN

El consumo de hongos silvestres se ha incrementado en los últimos años, pero en algunas ocasiones se confunden los hongos comestibles con los hongos venenosos. *Chlorophyllum molybdites* es una de las principales especies responsables de las intoxicaciones por hongos silvestres en México y en otras regiones del mundo, y no existen antecedentes de su toxicidad en eritrocitos humanos *in vitro*. Para las pruebas de hemólisis se elaboró un extracto acuoso de *C. molybdites*, y se aplicaron las siguientes concentraciones: 0, 250, 500 y 1000 µg/ml. Los eritrocitos se incubaron a 37°C por 1 hora, y se determinó el % de hemólisis a partir de las absorbancias obtenidas a 415 nm (liberación de hemoglobina). El hongo *C. molybdites* causó un 30% y un 76% de hemólisis en las concentraciones de 500 y 1000 µg/ml, respectivamente. Dicha investigación proporciona resultados relevantes sobre su potencial nocivo en eritrocitos humanos aislados.

Palabras clave: hongo; *Chlorophyllum molybdites*; Hemólisis; eritrocitos.

ABSTRACT

The consumption of wild mushrooms has increased in recent years, but sometimes edible mushrooms are confused with poisonous mushrooms. Chlorophyllum molybdites is one of the main species responsible for poisoning by wild mushrooms in Mexico and other

Correspondencia
alejandro_zugasti@uadec.edu.m
x
ORCID:000-0002-8385-6191

regions of the world, and there is no information about its toxicity in human erythrocytes *in vitro*. For the hemolysis tests, an aqueous extract of *C. molybdites* was prepared, and the following concentrations were applied: 0, 250, 500 and 1000 µg/ml. The erythrocytes were incubated at 37°C for 1 hour, and the % hemolysis was determined from the absorbances obtained at 415 nm (hemoglobin release). The fungus *C. molybdites* caused 30% and 76% hemolysis at concentrations of 500 and 1000 µg/ml, respectively. This research provides relevant results on its harmful potential in isolated human erythrocytes.

Keywords: fungus; *Chlorophyllum molybdites*; hemolysis; erythrocytes.

INTRODUCCIÓN

El parasol falso (*Chlorophyllum molybdites*) de la familia Agaricaceae, o también conocido como lepiota de esporas verdes, sombrilla de esporas verdes, hongo de burro (Tlaxcala), hongo de láminas verdes, hongo venenoso de jardín o vomitador, es un hongo macroscópico venenoso extendido alrededor del mundo, y el tercero en causar el mayor número de intoxicaciones en México al producir síntomas gastrointestinales severos (Alves y col., 2019; Aguirre-Acosta y col., 2014; Beug, 2004; Pérez-Silva y col., 1986), por lo que evaluar su aspecto toxicológico en eritrocitos humanos en la presente investigación se considera de relevancia médica.

El consumo de *Chlorophyllum molybdites* puede provocar afecciones gastrointestinales, entre las que se encuentran: irritación de estómago, cólicos severos, debilidad corporal o de extremidades, náuseas, vómitos, diarrea, depresión del estado de conciencia, mareos, fotofobia, visión borrosa, y con menor frecuencia fiebre, sudoración, escalofríos y palidez de aspecto cianótico. Por otro lado, afecciones más graves pueden incluir: diarrea con sangre (hemorragia) y shock hipovolémico (Lehmann y col., 1992; Negrini y col., 2022). Aunque la intoxicación provocada por este hongo no suele ser letal, la importancia de conocer su identidad recae en que se trata de una especie ampliamente distribuida y que se confunde fácilmente con

hongos comestibles (Cajas y col., 2016; Espinoza y Smith, 2019).

La importancia de la intoxicación por *C. molybdites* deriva de su frecuencia en población infantil y de la tercera edad, de los efectos adversos que conlleva y del escaso conocimiento existente sobre los posibles tratamientos, por lo que el tratamiento es sintomático a base de carbón activado, vitamina k, hidratación y penicilina cristalina, ya que no existe un antídoto (Cajas y col., 2016 Gutiérrez y Cifuentes, 1990).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la toxicidad de extracto acuoso de *Chlorophyllum molybdites* en eritrocitos humanos *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

RECOLECCIÓN DEL HONGO

C. molybdites fue recolectado en la ciudad de Saltillo, Coahuila, durante el mes de septiembre del año 2024 (Figura 1), estando presentes las condiciones climáticas de temperatura cálida y humedad ideales para el brote de esta especie en áreas de césped con humedad. La identificación del hongo macroscópico se realizó en el laboratorio de Inmunología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UAdeC. Se utilizó literatura especializada para la determinación de la especie (Guzmán, 1987).

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

Para la preparación del extracto acuoso, los hongos recolectados se deshidrataron en una incubadora a la temperatura de 38°C por 48

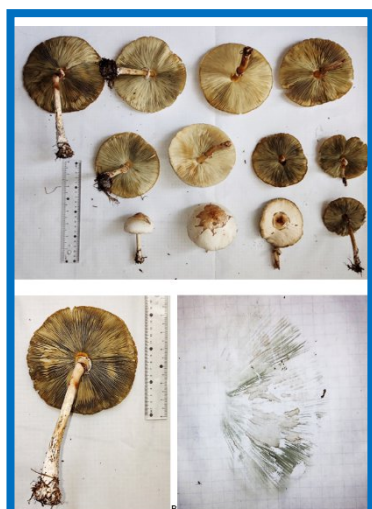


Figura 1. A. *C. molybdites* recolectado en septiembre de 2024, Saltillo, Coahuila. B. Hongo en etapa madura con laminillas verdosas distintivas de la especie. C. Rastro de esporas verdes liberadas por un ejemplar de *C. molybdites* maduro.

horas. Una vez seco, se trituró y se colocó en agua destilada a 100°C durante diez minutos. Posteriormente el extracto fue centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos para precipitar el material insoluble. Finalmente, liofilizado para su empleo en los experimentos (Figura 2).

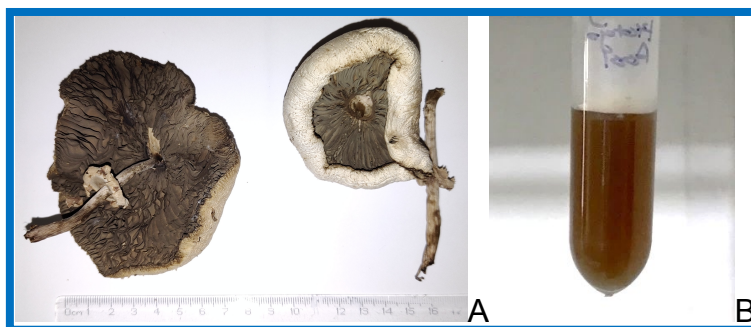


Figura 2. A. Hongo *C. molybdites* deshidratado. B. Extracto acuoso de *C. molybdites*.

MATERIAL BIOLÓGICO (MUESTRA DE SANGRE HUMANA)

Se obtuvo una muestra de sangre venosa, bajo previo consentimiento de un voluntario de 28 años, el cual se reportó sano, sin antecedentes de consumo de sustancias o medicamentos que pudiesen alterar la muestra y con ayuno previo de 10 horas. La toma sanguínea fue realizada por un profesional capacitado del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas, y se emplearon tubos con anticoagulante EDTA.

PRUEBA HEMOLÍTICA

Se cuantificó la hemólisis (definida como la liberación de hemoglobina) en eritrocitos humanos aislados que fueron expuestos a diferentes concentraciones del hongo: 0, 125, 250, 500 y 1000 µg/mL, los cuales fueron incubados por una hora a 37 °C. Se procedió a centrifugar las muestras a 2500 rpm durante cinco minutos y a continuación se leyeron a una longitud de 415 nm en el espectrofotómetro Uv-Vis. Se analizaron las propiedades tóxicas de *Chlorophyllum molybdites*, estimando los rangos hemolíticos en eritrocitos humanos, partiendo de parámetros previamente ensayados, estableciendo tres tratamientos más los controles, control positivo (100% de hemólisis), control negativo (0% de hemólisis) y controles de color. El cálculo de los porcentajes se realizó cuantitativamente mediante las

absorbancias obtenidas por el espectrofotómetro uv-vis a 415 nm y la aplicación de la fórmula matemática para obtener valores de hemólisis:

$$\% \text{ Hemólisis} = \left(\frac{(\text{Abs. de la concentración experimental})(\text{Abs. del control negativo})}{(\text{Abs. del control positivo} - \text{Abs. del control negativo})} \right) 100$$

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

El extracto acuoso del hongo *C. molybdites* causó hemólisis en los eritrocitos humanos con valores de 30 % y 76 %, en las concentraciones de 500 µg/mL y 1000 µg/mL, respectivamente (Figura 4).

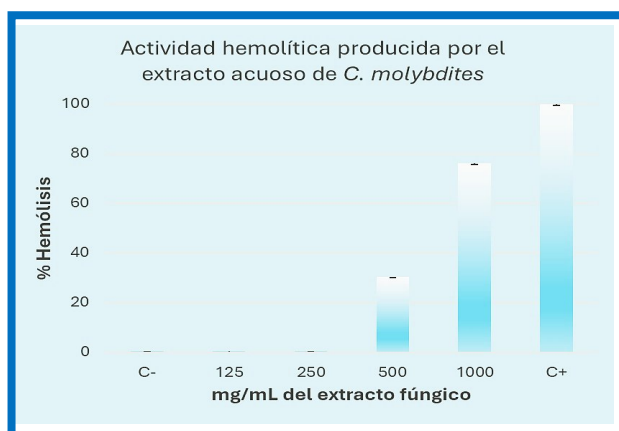


Figura 4. En la gráfica se muestran los porcentajes de hemólisis que causó el extracto acuoso del hongo *C. molybdites*. En las concentraciones de 500 µg/ml y 1000 µg/ml, con un porcentaje de hemólisis del 30 % y 76 %, respectivamente.

Chlorophyllum molybdites se encuentra dentro de los principales responsables de las intoxicaciones por hongos silvestres en México y en otras regiones del mundo. No obstante, no existen antecedentes en la literatura sobre las propiedades hemolíticas causadas por un extracto de *C. molybdites*. Por otro lado, en el país son pocos los centros de investigación que proporcionan información sobre la distribución, identificación y evaluación de riesgos toxicológicos en caso de ingestión de hongos silvestres venenosos, afectando a la población expuesta debido a la desinformación, escasa difusión y falta de actualización y vigilancia sobre los casos reportados, provocando un aumento en el número de casos de intoxicación accidental por hongos venenosos ya que suele ser confundido con *Chlorophyllum*

rhacodes, *Macrolepiota procera* o *Coprinus comatus*, los cuales son comestibles (Ramírez-Terrazo, 2017; Benjamin, 1995).

No obstante, sí existen algunas bases de datos con información biológica y taxonómica de hongos macroscópicos. Por ejemplo, la UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México), creó un registro de fichas digitales sobre hongos comestibles y tóxicos de México (Escutia y col., 2021); sin embargo, el estado de Coahuila no cuenta con un inventario o compendio actualizado de las setas de la región que sirva como guía para la identificación de estas y para la evaluación del riesgo a la salud. Existe una base de datos la CONABIO, llamada “Enciclovida”, en la cual se reportó la identificación de *C. molybdites*, en Saltillo, en agosto del año 2020. En nuestro caso, la recolección del hongo se realizó en el mes de septiembre lo cual concuerda con las fechas de otros reportes de identificación del hongo en la ciudad (Enciclovida, CONABIO). Se ha observado que la edad del hongo, las condiciones climáticas al momento de su recolecta, el sustrato donde crece y las diferencias genéticas entre las poblaciones, son factores que pueden influir en el nivel de toxicidad de *C. molybdites* (Espinoza y Smith, 2019; Loizides y col., 2011).

Por otro lado, entre las toxinas del hongo se ha reportado una proteína termolábil con un alto peso molecular, aunque puede desnaturalizarse a temperaturas mayores de 70° C o más durante 30 minutos, con lo cual es posible que reduzca o pierda su actividad (Pérez-Silva y Herrera, 1986). En este trabajo se preparó un extracto que se llevó a ebullición, con el fin de partir de un extracto en el cual se simulen las condiciones a las cuales generalmente el consumidor sometería el hongo para ingerirlo, como lo es el proceso de cocción de los alimentos. Es posible que dicha toxina no se encuentre en el extracto acuoso usado en esta investigación; no obstante, deben existir otros metabolitos de naturaleza no proteica que son estables a altas temperaturas, por lo que la cocción del hongo no elimina su toxicidad.

Los micetismos son un importante problema de salud en la población mexicana, ya que *C. molybdites* está entre las principales especies responsables de intoxicaciones gastrointestinales con cuadros sintomáticos severos en menores y adultos mayores, ya sea que se consuman de forma hervido o crudos, aunque su incidencia depende de cada persona y de la cantidad ingerida (Pérez-Silva y col., 2006;

Espinoza y col., 2019). Además, en México el consumo de hongos silvestres es parte del patrimonio cultural en estados como Oaxaca, Estado de México, Yucatán, entre otros; también los hongos forman parte de remedios herbolarios medicinales que son preparados por curanderos de pueblos indígenas y regiones del sureste del país (Pérez-Silva, 2018).

Es importante ahondar más profundamente en los efectos nocivos de dicha especie, por la relevancia que puede representar para el desarrollo de tratamientos para estas intoxicaciones que generalmente se deben a factores socioculturales, desinformación poblacional y consumo accidental (Rojas y col., 2019; Carreño-Ruiz y col., 2021).

CONCLUSIONES

El hongo *Chlorophyllum molybdites* mostró ser hemolítico en dos de las concentraciones evaluadas (500 y 1000 µg/ml), en un rango de porcentaje (30-70%) por lo que puede representar también un peligro para las células sanguíneas humanas y un riesgo para la salud de las personas. Es posible que la presencia de toxinas o metabolitos tóxicos termo-resistentes en el extracto acuoso obtenido fueron los responsables de los porcentajes de daño hemolítico obtenido. Es relevante seguir haciendo estudios de toxicidad de este hongo para obtener mejor información sobre su mecanismo de toxicidad. Los resultados obtenidos de esta investigación son de utilidad para otras líneas de investigación tanto en el ramo de la biomedicina, la toxicología clínica y para las investigaciones del ramo biotecnológico enfocado en el aprovechamiento de este hongo.

REFERENCIAS

- Aguirre-Acosta, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., & Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(Supl.): S76-S81.
- Alves, M.H., da Cruz, M.O. y do Nascimento, C.C. (2019). First record of *Chlorophyllum molybdites* (G. Mey.) Massee (Basidiomycota, Agaricaceae) from Piauí state, Brazil. *Check List the journal of biodiversity data*, 15: 695.

- Beug, M.W. (2004). An Overview of Mushroom Poisonings in North America. *The Mycophile*, 45(2):4-5.
- Benjamin, D.R. (1995). "Gastrointestinal síndrome". Mushrooms: poisons and panaceas — a handbook for naturalists, mycologists and physicians. New York: WH Freeman and Company. pp. 351–377.
- Cajas, C., Juárez, H., Gaitán, E. (2016). Intoxicación por *Chlorophyllum molybdites*: Presentación de dos casos y revisión de la literatura. *Revista Medicina Interna*, 20(1): 2016.
- Carreño Ruíz, S.D., Cappello García, S., García-García, M.A. & Xicoténcatl Maldonado, P.I. (2021). Potencial tintóreo de cinco especies de macromycetes silvestres nativos de Tabasco, México, sobre fibras de origen natural. *Scientia fungorum*, 52: e1404. Epub 09 de mayo de 2022. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.52.1404>
- Enciclovida (2024). Biodiversidad Mexicana. CONABIO. <https://enciclovida.mx/especies/2222>
- Escutia, M. M., Ramírez T. A., Garibay O. R. (2021). Hongos silvestres comestibles y tóxicos de México. Instituto de Biología, UNAM. <https://hongoscomestiblesytoxico.s.ib.unam.mx/index.html>
- Espinoza, L., Smith, M. E. (2019). The Green-Spore Poison Parasol Mushroom, *Chlorophyllum molybdites*. Plant Pathology Department, UF/IFAS Extension.
- Gutiérrez, J., Cifuentes, J. (1990). Contribución al conocimiento del género *Agaricus* subgénero *Agaricus* en México, I. *Revista Mexicana de Micología*, 6: 151-177.
- Guzmán, G. (1987). Identificación de los hongos: comestibles, venenosos y alucinantes. LIMUSA. México.
- Lehmann, P.F., Khazan, U. (1992). Mushroom poisoning by *Chlorophyllum molybdites* in the Midwest United States. Cases and a review of the syndrome. *Mycopathologia*, 118(1): 3-13.
- Loizides M., Kyriakou T., Tziakouris, A. (2011). Edible & Toxic Fungi of Cyprus (in Greek and English). Published by the authors. pp. 132–133.
- Negrini, V., Lonati, D., Pappalardo, A., Schicchi, A., Petrolini, V., Bernasconi, L., Brolli, B., Grazioli, C., Alonzo, E., Locatelli, C. (2022). Case series of *Chlorophyllum molybdites* intoxication in Sicily: an "alien" mushroom species in Europe. *Annali dell'Istituto Superiore Di Sanita*, 58: 213-217.
- Pérez-Silva, E., Herrera, T. (1986). Macromicetos tóxicos: *Chlorophyllum molybdites* causante de micetismo gastrointestinal en México. *Revista de la Sociedad*

Mexicana de Historia Natural, 38: 27-33.

Pérez-Silva, E., Esqueda, M., Herrera, T., Coronado, M. (2006). Nuevos registros de Agaricales de Sonora, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 77: 23-33.

Pérez-Silva, E. (2018). Hongos de zonas urbanas: Ciudad de México y Estado de México. *Scientia fungorum*, 47: 57-66.

Ramírez-Terrazo, A. (2017). Importancia cultural de los hongos no comestibles en dos comunidades de las faldas del volcán La Malintzi, Tlaxcala (Tesis de maestría, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México).

Rojas C. G., Rosales L. C., Rivera, J y Alfaro A. (2019). Tipos de micetismo y su tratamiento (Revisión bibliográfica). Facultad de Farmacia. Universidad de Costa Rica.