



## Evaluación del efecto hemostático del gel al 25 % de mangle rojo en la hemorragia aguda

Evaluation of the hemostatic effect of 25% red mangrove gel in acute hemorrhage

Idelsis Esquivel Moynelo<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0649-6794>

José Luis Pérez Alejo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0665-756X>

Maritania Vizcaino Cesar<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9086-2709>

Gastón García Simón<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4360-6606>

Regla Maité Casanova Orta<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8590-6332>

Roberto Medina López<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0275-2607>

<sup>1</sup>Hospital Militar Central “Dr. Luís Díaz Soto”. Departamento de Investigaciones Médico Militares. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia. Correo electrónico:[idelsisem@infomed.sld.cu](mailto:idelsisem@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** En la medicina tradicional se le atribuyen efectos hemostáticos a partes de la planta de mangle rojo (*Rhizophora mangle*).

**Objetivo:** Evaluar el efecto hemostático en la hemorragia aguda, del gel al 25 % de mangle rojo.

**Métodos:** Se realizó un estudio en un modelo animal con 5 grupos de ratas albinas; grupo I (warfarina), II (fitomenadiona), III (cloruro de sodio al 0,9 %), IV (control sin tratamiento) y V (gel de mangle rojo al 25 %). Se produjo una amputación de una extremidad y se midió el tiempo de sangrado (en min) y la



cantidad de sangrado (en g). Se realizó un análisis de comparación de medias con los resultados de las mediciones.

**Resultados:** En cuanto a la duración del sangrado, las medias y desviaciones estándar fueron las siguientes: grupo I ( $3,12 \pm 0,35$ ), grupo II ( $1,25 \pm 0,30$ ), grupo III ( $2,94 \pm 0,42$ ); grupo IV ( $2,10 \pm 0,36$ ) y grupo V ( $0,71 \pm 0,10$ ). En la cantidad de sangrado, las medias y desviaciones estándar fueron: grupo I ( $2,97 \pm 0,20$ ), grupo II ( $1,15 \pm 0,38$ ), grupo III ( $2,36 \pm 0,30$ ), grupo IV ( $2,90 \pm 0,92$ ) y grupo V ( $1,16 \pm 0,36$ ). Para ambas variables hubo diferencias estadísticamente significativas de los grupos II y V ( $p < 0,05$ ) con los demás grupos y no las hubo entre el grupo II y IV.

**Conclusiones:** El gel de mangle rojo al 25 % presenta efecto hemostático similar a la fitomenadiona, según la duración y cantidad de sangrado.

**Palabras clave:** animales; hemorragia; hemostasis; hemostáticos; ratas; Rhizophoraceae.

## ABSTRACT

**Introduction:** In traditional medicine, hemostatic effects are attributed to parts of the red mangrove plant (*Rhizophora mangle*).

**Objective:** To evaluate the hemostatic effect of 25% red mangrove gel on acute hemorrhage.

**Methods:** A study was carried out in an animal model with 5 groups of albino rats; group I (warfarin), II (phytomenadione), III (0.9% sodium chloride), IV (untreated control) and V (25% red mangrove gel). One limb amputation was produced and the bleeding time (in min) and the amount of bleeding (in g) were measured. A mean comparison analysis was performed with the results of the measurements.

**Results:** For bleeding time, the means and standard deviations were as follows: group I ( $3.12 \pm 0.35$ ), group II ( $1.25 \pm 0.30$ ), group III ( $2.94 \pm 0.42$ ); group IV ( $2.10 \pm 0.36$ ) and group V ( $0.71 \pm 0.10$ ). For the amount of bleeding, the means and standard deviations were: group I ( $2.97 \pm 0.20$ ), group II ( $1.15 \pm 0.38$ ), group III ( $2.36 \pm 0.30$ ), group IV ( $2.90 \pm 0.92$ ) and group V ( $1.16 \pm 0.36$ ). For both variables there were statistically significant differences of groups II and V ( $p < 0.05$ ) with the other groups and none between group II and IV.

**Conclusions:** The 25% red mangrove gel presents hemostatic effect similar to phytomenadione, according to the duration and amount of bleeding.



**Keywords:** animals; hemorrhage; hemostasis; hemostatics; rats; Rhizophoraceae.

Recibido: 13/08/2022

Aprobado: 18/05/2023

## INTRODUCCIÓN

El mangle rojo (*Rhizophora mangle*) pertenece a la familia Rhizophoraceae, género *Rhizophora*.<sup>(1)</sup> Todos los miembros de este género pantropical son considerados verdaderos mangles.<sup>(2)</sup> Su taxonomía no está definida por completo; tiene una composición química variada y compleja, caracterizada por la presencia de polifenoles, con taninos poliméricos (80 %) y taninos hidrolizables.<sup>(3)</sup> Sus principales usos medicinales son como cicatrizante, antiséptico, antimicrobiano, antiulceroso, antiinflamatorio, antioxidante, antidiarreico, entre otros.<sup>(4)</sup>

Al mangle rojo se le han realizado estudios que demuestran efectos favorables en diferentes enfermedades. En la medicina tradicional se le atribuyen propiedades medicinales. Existe un estudio de plantas cubanas con actividad antimicrobiana, que reporta el efecto de extractos acuosos y alcohólicos de hojas, tallos y raíces del mangle rojo, sobre bacterias, hongos y levaduras.<sup>(5)</sup> Se evidencia la evaluación, con resultados satisfactorios, en un ensayo clínico fase II, como antiséptico y acelerador del proceso de curación en pacientes con heridas quirúrgicas abiertas; también se ha evaluado su actividad como medicamento antiulcerogénico.<sup>(6)</sup> Estudios farmacológicos y toxicológicos han demostrado, tanto su inocuidad, como diversos mecanismos de acción.<sup>(7)</sup> También existen reportes en los cuales se mencionan su efecto medicinal hemostático.<sup>(8,9,10)</sup>

Según *Grimaldo-Gómez*<sup>(11)</sup> una de las funciones de la hemostasia es “suprimir la salida de sangre desde el espacio intravascular a través de un vaso lesionado (con pérdida de la continuidad)”. *UpToDate*<sup>(12)</sup> muestra en los EE. UU. 15 agentes hemostáticos tópicos y de ellos, 1 procedente de plantas (*oxidized*



*regenerated cellulose*). En el presente estudio se prueba la hipótesis, de que el gel de mangle rojo, al 25 %, posee efecto hemostático.

El modelo animal utilizado se consideró el más apropiado, al considerar posibles perspectivas de estudios preclínicos en humanos, de acuerdo con los resultados de la presente investigación.<sup>(13,14)</sup>

El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto hemostático del gel al 25 % de *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo) en la hemorragia aguda en un modelo animal.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio en un modelo animal. Se utilizaron 25 ratas albinas, con un peso comprendido entre 190 y 220 g. Las condiciones de cuarentena y aclimatación fueron las establecidas a una temperatura de  $20 \pm 3$  °C, humedad relativa: 30 % - 70 %, ciclo de luz/ oscuridad: 12/12 h. El agua y la comida fueron suministradas *ad libitum*.

Se dividieron en 5 grupos (I, II, III, IV y V), con 5 animales cada uno (tabla 1).

**Tabla 1** - Dosis y vías en que fueron suministrados los compuestos a probar

Grupos		Dosis y vías de administración
I	Control positivo con warfarina	2 mg/kg por v.o. (0,4 g/2 mL)
II	Control positivo con fitomenadiona	0,165 mg/kg por vía i.m. (0,4 mL/200 g)
III	Control negativo con cloruro de sodio al 0,9 %	2 mL/200 g por v.o.
IV	Sin tratamiento (control)	-
V	Tratamiento con gel de mangle rojo al 25 %	3 g/200 g por vía tópica.

## Variables

- Duración del sangrado: Tiempo transcurrido luego de realizada la amputación, hasta el cese de la hemorragia (en minutos).



- Cantidad de sangrado: Cantidad de sangre en gramos vertida, desde la amputación hasta la detención de la hemorragia (en gramos).

## Procedimientos

El gel de mangle rojo fue preparado a partir del extracto acuoso liofilizado de las hojas de la planta; con una concentración del 25 %, utilizando como vehículo, gel hidrosoluble. El ensayo tuvo una duración de 10 días; 5 de aclimatación de los animales y 5 de ensayo. Al finalizar, los animales fueron sacrificados, según los procedimientos de toxicología alternativa.<sup>(15)</sup>

Los productos fueron administrados durante 4 días consecutivos, antes de provocar la lesión. Al quinto día, los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico, 50 mg/kg, por vía intraperitoneal, luego se rasuró una de las extremidades posteriores y se sumergió durante 5 minutos en 50 mL de solución de cloruro de sodio al 0,9 % y temperatura de 37 °C. Posteriormente se amputó la extremidad, 5 mm por debajo de la rodilla. En la tabla 1 se muestran los compuestos probados, los grupos y la aplicación de los compuestos.

La sangre vertida se recogió en un papel de filtro, el cual fue pesado antes de la amputación y después del cese de la hemorragia. Se utilizó una pesa mecánica-modelo: OWA-62852; para medir el tiempo de la hemorragia, se utilizó un cronómetro DIAMOND-03-003.034:04 v-2, ambos instrumentos con calibración actualizada.

## Procesamiento

Para los datos de las variables se determinó la media y la desviación estándar por grupo. Se realizó un análisis de varianza y ante resultados significativos se utilizó como prueba *post hoc*, el test de Student-Newman-Keuls<sup>(16)</sup> para identificar los pares de media con diferencias. Se consideraron significativas las diferencias con una  $p < 0,05$ .

## Aspectos bioéticos

El estudio se realizó de acuerdo con lo establecido en la legislación cubana: el Decreto-Ley 31/2021 De Bienestar Animal, Capítulo VIII, De los animales en la experimentación;<sup>(17)</sup> el Decreto 38/2021 Reglamento del Decreto-Ley 31 de Bienestar Animal, Capítulo VI, De los animales en la



experimentación.<sup>(18)</sup> El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética para el Uso y Cuidado de los Animales, del Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto".<sup>(19)</sup>

## RESULTADOS

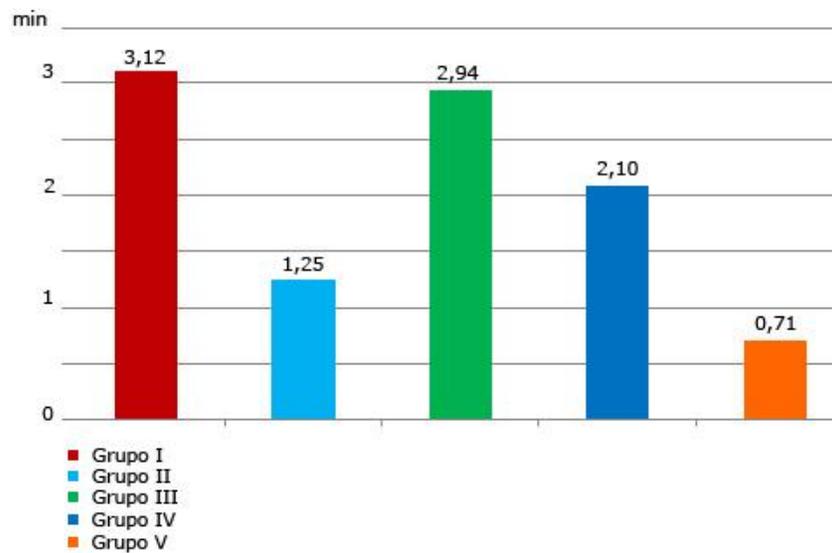
En los grupos II y V la duración media del sangrado fue menor que en los grupos I, III y IV ( $p < 0,05$ ). Entre los grupos II y V no hubo diferencias entre las medias de la duración del sangrado ( $p > 0,05$ ). En cuanto a la cantidad de sangrado, de forma similar, las medias de los grupos II y V no tuvieron diferencias entre ellas, pero sí fueron estadísticamente significativas las diferencias con los demás grupos (I, III y IV) (tabla 2).

**Tabla 2** – Descripción de la duración del sangrado y la cantidad de sangrado en cada grupo

Grupos	Duración del sangrado (min) (X ± DS)	Cantidad de sangrado (g) (X ± DS)
I	3,12 ± 0,35	2,97 ± 0,20
II	1,25 ± 0,30 *	1,15 ± 0,38 *
III	2,94 ± 0,42	2,36 ± 0,30
IV	2,10 ± 0,36	2,90 ± 0,92
V	0,71 ± 0,10 *	1,16 ± 0,36 *

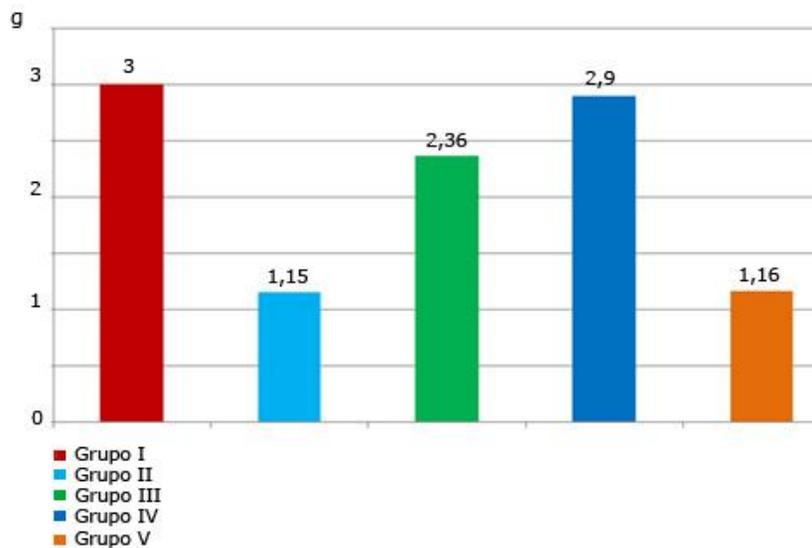
X – media; DS – desviación. \* diferencias estadísticamente significativas con los demás grupos, con  $p < 0,05$  (no entre ellos;  $p > 0,05$ ).

En las figuras siguientes, se grafican las diferencias observadas en la tabla 2, para la variable duración del sangrado (Fig. 1) y cantidad de sangrado (Fig. 2).



Grupo I: control positivo con warfarina; grupo II: control positivo con fitomenadiona; grupo III: control negativo con cloruro de sodio al 0,9 %; grupo IV: sin tratamiento (control); grupo V: gel de mangle rojo al 25 %.

**Fig. 1** - Duración del sangrado en cada grupo.



Grupo I: control positivo con warfarina; grupo II: control positivo con fitomenadiona; grupo III: control negativo con cloruro de sodio al 0,9 %; grupo IV: sin tratamiento (control); grupo V: gel de mangle rojo al 25 %.

**Fig. 2** - Cantidad de sangrado en cada grupo.



## DISCUSIÓN

En la exploración bibliográfica realizada, no se han encontrado referencias de estudios sobre el efecto hemostático del mangle rojo, por tanto, el presente estudio puede ser el primero en el cual se investiga esta propiedad, atribuida al mangle rojo por la tradición popular. El antecedente encontrado se relaciona con el uso del hidrogel de *Rhizophora mangle* al 5 % en la prevención de la necrosis de colgajos de piel isquémica, con resultados favorables.<sup>(20)</sup>

Se evidenció que el mayor tiempo de sangrado fue en el grupo control positivo, tratado con warfarina,<sup>(21)</sup> por su acción anticoagulante, seguido del grupo tratado con cloruro de sodio al 0,9 %, <sup>(22)</sup> inerte ante la coagulación, y el grupo sin tratamiento, que tuvo el tiempo y cantidad de sangrado normal en las ratas (2,5 a 3 min). En el caso del grupo tratado con fitomenadiona,<sup>(23)</sup> con mecanismo de acción coagulante y el grupo tratado con el gel de mangle rojo al 25 %, lograron la hemostasia en menor tiempo, con menor cantidad de sangrado. Además, se puede apreciar que la duración del sangrado en el grupo tratado con el gel de mangle rojo al 25 % fue ligeramente menor que en el grupo tratado con fitomenadiona, aunque sin diferencias estadísticamente significativas.

La acción hemostática del gel de mangle rojo, probablemente se debe a la presencia de diversos compuestos polifenólicos en su estructura química, como fenoles, flavonoides y taninos, los cuales presentan propiedades astringentes y en la formulación tópica utilizada, los taninos hidrolizables y el tanino condensado pueden influir en sangrado y en la formación del coágulo, al ser aplicados directamente a la superficie sangrante.

El gel de mangle rojo al 25 % presenta efecto hemostático similar a la fitomenadiona, según la duración y cantidad de sangrado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blanco L. Mangle rojo: características, hábitat, cultivo, beneficios. Lifeder, Ciencia, Biología, Botánica [actualizado: 18/12/2020; acceso: 14/06/2022]. Disponible en:

<https://www.lifeder.com/mangle-rojo/>

<http://scielo.sld.cu>

<http://www.revmedmilitar.sld.cu>



2. Suman DO. El ecosistema de manglar en América Latina y la cuenca del Caribe: su manejo y conservación. Florida, Miami: Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, Universidad de Miami & New Yor, The Tinker Foundation; 1994. [acceso: 14/06/2022]. Disponible en: <http://www.invemar.org.co/redcostera1/invemar/docs/RinconLiterario/2012/octubre/B-6.pdf>
3. Regalado AI, Sánchez LM, Mancebo B. Rhizophora mangle L. (mangle rojo): Una especie con potencialidades de uso terapéutico. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research. 2016 [acceso: 14/06/2022]; 4(1):1-17. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4960/496053933001.pdf>
4. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. Madrid: Editorial Acribia; 2001.
5. Ferreira F, Santos S, Barros T, Rossi Alva J, Fernández L. Atividade antibacteriana in vitro de extratos de Rhizophora mangle L. Rev Bras Pl. Med. 2011; 13(3):305–10. DOI: 10.1590/S1516-05722011000300009
6. Marroquín Tintí MN. Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos etanólicos de hoja y corteza de mangle rojo (Rhizophora mangle L) mediante técnicas in vitro, para su aprovechamiento en la industria fitofarmacéutica [Tesis de maestría en ciencias]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad De Ciencias Químicas y Farmacia; 2016. [acceso: 14/06/2022]. Disponible en: [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/08/911593/evaluacion-de-la-actividad-cicatrizante-de-extractos-etanolicos\\_hjDkizu.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/08/911593/evaluacion-de-la-actividad-cicatrizante-de-extractos-etanolicos_hjDkizu.pdf)
7. Bulnes C, Fernandez O, Navarro D, Marrero E, Rueda D, Figueroa O. Healing effect of a red mangrove extract on open aseptic wounds in rats. Rev Salud Anim. 2001 [acceso: 14/06/2022]; 23(2):102-8. Disponible en: <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA146893268&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=0253570X&p=IFME&sw=w&userGroupName=anon%7E134681a0>
8. Meira de-Faria F, Alves Almeida AC, Luiz-Ferreira A, Takayama C, Dunder RJ, Aparecido da Silva A, et al. Antioxidant Action of Mangrove Polyphenols against Gastric Damage Induced by Absolute Ethanol and Ischemia-Reperfusion in the Rat. The Scientific World Journal. 2012: 327071. DOI: 10.1100/2012/327071



9. Marrero E, Sanchez J, de Armas E, Escobar A, Melchor G, Abad MJ, et al. COX-2 and sPLA2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of *Rhizophora mangle* (red mangrove). *FITOTERAPIA*. 2006; 77: 313-15. DOI: 10.1016/j.fitote.2006.03.009
10. Marroquín Tintí MN. Actividad biológica y caracterización química de los extractos de las hojas de *Rhizophora mangle* L., como una alternativa fitofarmacéutica en la cicatrización. *Ciencia, tecnología y salud*. 2016; 3(1):73-82. DOI: 10.36829/63CTS.v3i1.155
11. Grimaldo-Gómez FA. Fisiología de la hemostasia. *Revista Mexicana de Anestesiología*. 2017 [acceso: 27/07/2022]; 40(Supl 2):398-400. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2017/cmas172b.pdf>
12. UpToDate. Topical hemostatic agents for managing bleeding. Wolters Kluwer, UpToDate; 2022 [acceso: 14/06/2022]. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=SURG%2F71852>
13. Vandamme TF. Use of rodents as models of human diseases. *J Pharm Bioallied Sci*. 2014; 6(1):2–9. DOI: 10.4103/0975-7406.124301
14. Hickman DL, Johnson J, Vemulapalli TH, Crisler JR, Shepherd R. Commonly Used Animal Models. *Principles of Animal Research for Graduate and Undergraduate Students*. 2017: 117–75. DOI: 10.1016/B978-0-12-802151-4.00007-4
15. Meneau Hernández RI. Métodos Alternativos en Toxicología. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 2014 [acceso: 14/06/2022]; 45(1):11-21. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181230079003.pdf>
16. Kirkpatrick LA, Feeney BC. Excerpt from: *A Simple Guide to SPSS for Windows*. Canada: Western University; 2004. [acceso: 14/06/2022]. Disponible: <https://instruct.uwo.ca/biology/345a/Stats.pdf>
17. Consejo de Estado República de Cuba. Decreto-Ley 31/2021 De Bienestar Animal. La Habana: Gaceta Oficial de la República de Cuba No. 25 Extraordinaria de 10 de abril de 2021. [acceso: 27/07/2022]. Disponible en: <https://www.gacetaoficial.gob.cu/sites/default/files/goc-2021-ex25-.pdf>
18. Consejo de Estado República de Cuba. Decreto 38/2021 Reglamento del Decreto-Ley 31 de Bienestar Animal. La Habana: Gaceta Oficial de la República de Cuba No. 25 Extraordinaria de 10 de



abril de 2021. [acceso: 27/07/2022]. Disponible

en: <https://www.gacetaoficial.gob.cu/sites/default/files/goc-2021-ex25-.pdf>

19. CECMED. Regulación no. 64/13. Lineamientos para la constitución y funcionamiento de los comités institucionales para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (CICUAL). La Habana: Centro para el Control Estatal de Medicamentos y Equipos Médicos; 2013. [acceso: 27/07/2022].

Disponible en:

[https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/reg\\_no\\_64\\_2013\\_lineamientos\\_cicual-1.pdf](https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/reg_no_64_2013_lineamientos_cicual-1.pdf)

20. da Silva LA, Lira EC, Bastos Leal L, de Santana ES, de Franca Barbosa IC, de Albuquerque Silva YJ, et al. Prevention of necrosis in ischemic skin flaps using hydrogel of *Rhizophora mangle*. *Injury*. 2022; 53(7):2462-69. DOI: 10.1016/j.injury.2022.03.034

21. Vademecum. Warfarina. Madrid: Vidal Vademecum Spain; 2021 [acceso: 27/07/2022]. Disponible en: <https://www.vademecum.es/principios-activos-warfarina-b01aa03>

22. CECMED. Resumen de las características del producto: Cloruro de sodio 0,9 %. La Habana: Centro para Control Estatal de Medicamentos y Equipos Médicos; 2017. [acceso: 14/06/2022].

Disponible en: [https://www.cecmecmed.cu/file/5731/download?token=Ej\\_3QGst](https://www.cecmecmed.cu/file/5731/download?token=Ej_3QGst)

23. CECMED. Resumen de las características del producto: Fitomenadiona. La Habana: Centro para Control Estatal de Medicamentos y Equipos Médicos; 2017. [acceso: 14/06/2022]. Disponible en:

<https://www.cecmecmed.cu/file/6443/download?token=xNJ4mwQb>

## Conflictos de interés

Los autores declaran que existen conflictos de interés en relación con el presente trabajo.

## Contribuciones de los autores

Conceptualización: *Idelsis Esquivel Moynelo, José Luis Pérez Alejo.*

Curación de datos: *Idelsis Esquivel Moynelo.*



Análisis formal: *Idelsis Esquivel Moynelo, José Luis Pérez Alejo, Maritania Vizcaino Cesar, Gastón García Simón, Regla Maité Casanova Orta, Roberto Medina López.*

Investigación: *Idelsis Esquivel Moynelo, José Luis Pérez Alejo, Maritania Vizcaino Cesar, Gastón García Simón, Regla Maité Casanova Orta, Roberto Medina López.*

Metodología: *Idelsis Esquivel Moynelo, José Luis Pérez Alejo.*

Administración del proyecto: *Idelsis Esquivel Moynelo.*

Recursos: *Gastón García Simón, Regla Maité Casanova Orta, Roberto Medina López.*

Supervisión: *Idelsis Esquivel Moynelo.*

Validación: *Idelsis Esquivel Moynelo.*

Visualización: *Idelsis Esquivel Moynelo.*

Redacción – borrador original: *Idelsis Esquivel Moynelo, José Luis Pérez Alejo, Maritania Vizcaino Cesar, Gastón García Simón, Regla Maité Casanova Orta, Roberto Medina López.*

Redacción – revisión y edición: *Idelsis Esquivel Moynelo, José Luis Pérez Alejo, Maritania Vizcaino Cesar, Gastón García Simón, Regla Maité Casanova Orta, Roberto Medina López.*