

EFECTOS CARDIOVASCULARES PRODUCIDOS POR LAS FRACCIONES HIDRO Y LIPOSOLUBLES OBTENIDAS DEL POLYPODIUM LEUCOTOMOS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Pablo José Cambar, Mario Mendoza,
Pedro Portillo, Isabelle Seaman, Ricardo Bulnes***

INTRODUCCIÓN

En varios trabajos de investigación clínica se ha establecido que las fracciones de extractos de rizomas y de hojas del helécho *Polypodium leucotomos* tienen efectos favorables en el tratamiento de psoriasis¹ (estudios doble ciego, cruzados) en la terapéutica de la osteoartritis² (estudio abierto) o en la dermatitis atópica¹. Aunque de las fracciones hidro y liposolubles de la calaguala se han identificado numerosos grupos químicos: carbohidratos, ferenos, terpenos, triterpenos, viscianinas y otros, se ignora cuál estructura/s es la responsable directa de sus efectos beneficiosos. En el cernimiento farmacológico preclínico de las fracciones hidro y liposolubles Cf4 y Cf3 extraídas de la calaguala, sólo se observó leve y efímera hipotensión, cuando en forma individual o combinada se dieron por vía G.I., sin embargo, inyectado por vía I.V. la fracción hidrosoluble (Cf4) redujo la presión arterial sistólica y diastólica acompañada de bradicardia en ratas, conejos y perros. En corazones aislados de conejo redujo el flujo coronario, en estos últimos aumentó la contractibilidad cardíaca. En conejos toracotomizados incrementó la fuerza miocárdica. En la aurícula aislada de rata incrementó la contractibilidad con pocos cambios en el período refractario y excitabilidad miocárdica esti-

mados indirectamente. Estos efectos sobre contractibilidad observados en las diferentes preparaciones, se invirtieron al usar dosis elevadas de Cf4. La hipotensión producida por la calaguala no puede ser atribuida a un efecto muscarínico. Aumentó levemente los efectos de la histamina y disminuyó los de la prostaglandina E₁ en presión arterial. Inhibió la respuesta presora evocada por la oclusión carotídea bilateral, por lo que se puede sospechar bloqueo de reflejos cardiovasculares centrales, sin embargo puesto que aumentó el flujo sanguíneo femoral, una acción relajante de musculatura lisa es plausible.

MATERIAL Y MÉTODOS

PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS ANESTESIADAS (Cf4 ó Cf4 + Cf3)

Se usaron 24 ratas wistar anestesiadas con ácido dialilbarbitúrico (50 mgs/kg) y uretano (200 mgs/Kg) inyectado por vía intraperitoneal (I. p.) La presión arterial se registró por medio de un transductor Statham P23DC, conectado a la arteria carótida primitiva derecha. Se tomó el electrocardiograma en derivación II para registrar la frecuencia cardíaca en un polígrafo Grass 5D. Se administró la fracción hidrosoluble Cf4 por vía I.V. a la dosis de 10, 30, 100 y 300 mgs/kg. En ocho ratas adicionales se introdujo un catéter por vía intragástrica, administrando la fracción Cf4 hidrosoluble a la dosis de 300 y 600 mgs/Kg. En otro lote de ratas preparadas en la forma arriba descrita se administró por

* CID-CONRAD Investigación Clínica

** Depto. de Oncología Hospital General San Felipe
Los autores son profesores del Depto. de Ciencias Fisiológicas de la Facultad de Ciencias Médicas.

vía intragástrica una emulsión de las fracciones hidro y Hposolubles de la calaguala en aceite de oliva que sirvió para control. La emulsión de Cf4 + Cf3 en aceite de oliva se usó en la proporción de Cf4 y Cf3 de 99 a 10/o respectivamente. Para el registro de la presión arterial se usó un transductor Narco Bio-Systems, Inc. PN700-1010. Por medio de electrodos de aguja se registró pneumografía de impedancia y electrocardiografía en derivación II, usando un fisiógrafo CPM de Narco-Biosystem para medir en papel los parámetros arriba referidos. Los registros se hicieron cada 5 minutos durante una hora para cada inyección de aceite de oliva o de la emulsión de Cf4 + Cf3. A di ció nal mente más de 40 ratas wistar se han usado en diferentes períodos de tiempo para estudiar la respuesta hipotensora evocada por la inyección de Cf4 por vía I.V., con el objeto de dilucidar si la fracción hidrosoluble Cf4 mantiene sus propiedades biológicas iniciales.

PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS SIN ANESTESIAR (Cf4 ó Cf4 + Cf3)

Se usaron 48 ratas wistar divididas en controles y tratadas durante un período de 4 meses con Cf4 por vía oral a las dosis de 250 y 500 mgs/kg. El grupo control recibió agua destilada. La mitad de las ratas pertenecían al sexo masculino y la otra mitad al femenino. Para estudiar la presión arterial sistólica, frecuencia cardíaca y respiratoria sin anestesiar la rata, se usó la unidad de estudio de peque-

ños animales, desarrollada por Narco biosystems Inc. de Texas E.U., que consiste en una base dotada de unidad sujetadora de las ratas y con sistema de calentamiento, de tal manera que se puede mantener una adecuada circulación en la cola de la rata para medir la presión sistólica, por medio de un transductor neumático para pulso. Colateralmente con electrodos de aguja insertados en el tejido celular subcutáneo de la rata y con los adecuados sistemas de amplificación de las señales se midió la frecuencia cardíaca y visualmente con contómetro la respiración.

El registro de los parámetros aludidos se logró por medio de un fisiógrafo Narco biosystem CPM. (Ver diagrama 1). En un grupo adicional de 8 ratas y usando los mismos parámetros y el sistema de registro arriba apuntado, se administró por vía oral aceite de oliva o una emulsión de las fracciones hidro y hposolubles de la calaguala (Cf4 y Cf3) en la proporción de 99o/o a 10/o a las dosis de 60 y 180 mgs/Kg calculados en base a Cf4.

SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO Y AUTACOIDES

Se ensayaron los efectos de la fracción hidrosoluble de Polypodium leucotomos o Cf4 en tres ratas antes y después de someterlas a vagotomía bilateral. En otras tres ratas atropinizadas y sometidas a prueba de seguridad de bloqueo, con acetilcolina se inyectó la fracción Cf4 a la dosis de 300mgs/

Los resultados se presentan como promedio y \pm error standard de la media

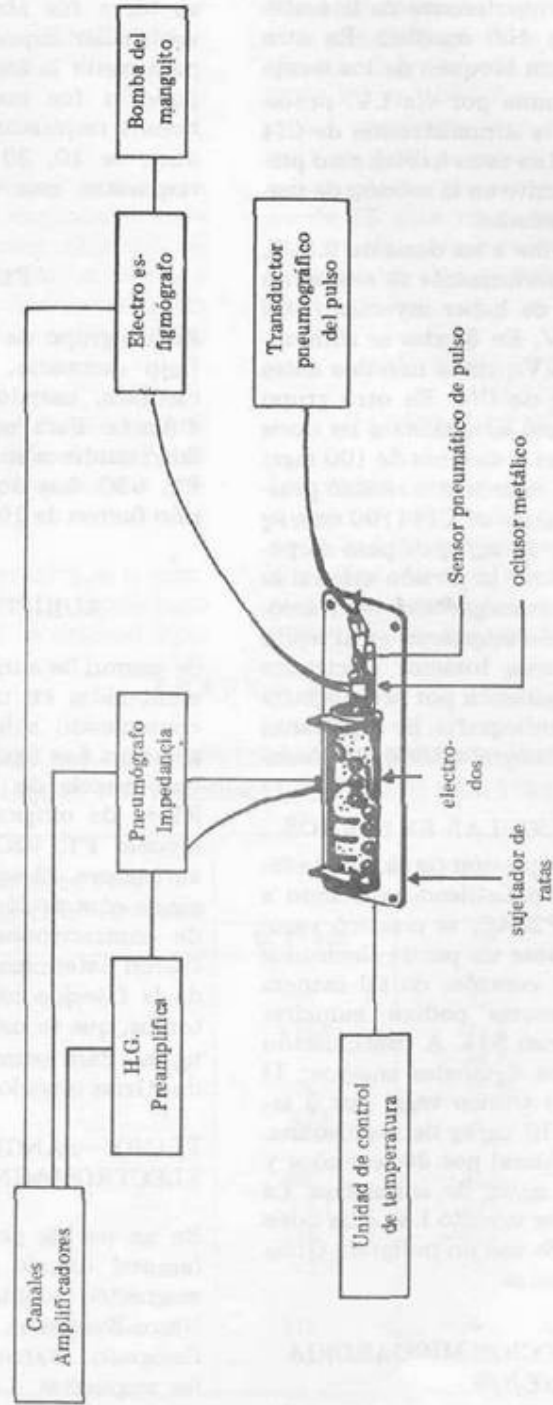
CUADRO 1

EFFECTOS DE Cf4 OBTENIDO DE POLYPODIUM LEUCOTOMOS ADMINISTRADO POR VIA INTRADUODENAL SOBRE LA PRESION ARTERIAL Y LA FRECUENCIA CARDIACA DE RATAS ANESTESIADAS

DOSIS DE Cf4 I. V. mgs/Kg	NUMERO DE RATAS (NUMERO DE INYECCIONES)	PRESION ARTERIAL* (mmHg)		FRECUENCIA CARDIACA* (Latidos por minuto)	
		CONTROL	Δ %	CONTROL	Δ %
300	5 (5)	95 ± 10.5	- 16 ± 3.9	305 ± 9.0	- 2.1 ± 15
600	8 (8)	102.5 ± 9.8	- 17 ± 5	313 ± 7.7	0 ± 0

DIAGRAMA 1

UNIDAD DE ESTUDIO DE ANIMALES PEQUEÑOS



Kg. En grupos adicionales de ratas se investigó el efecto sobre la respuesta hipotensora a la acetilcolina (Cf4 a la dosis de 100 mgs/kg). En otro grupo también se ensayó un bloqueo de los receptores H1 con difenhidramina por vía I.V. procediendo a continuación a la administración de Cf4 a la dosis de 100 mgs/kg. Las ratas habían sido preparadas como ha sido descrito en la sección de presión arterial en ratas anestesiadas. En 10 ratas se usó histamina a las dosis de 0.5, 1, 2, 4 y 8 ug/kg I.V. y posteriormente se repitieron las mismas dosis después de haber inyectado 100 mgs/Kg de Cf4 por vía I.V. En 5 ratas se administró serotonina 10 mg/kg I.V., cinco minutos antes y después de 100 mgs/kg de Cf4. En otro grupo adicional de ratas se inyectó adrenalina a las dosis de 0.2, 2 y 2.5 ug/kg antes y después de 100 mgs/kg de Cf4. Otro grupo de ratas wistar recibió prostaglandina E1 antes y después de Cf4 (100 mgs/kg I.V.) a las dosis de 5, 10 y 20 ug/kg de peso corporal por vía I.V. para registrar la presión arterial se usó un transductor electromagnético de Narco-Biosystem PN 700-1010. Se insertaron en el tejido celular subcutáneo del área torácica electrodos de aguja para medir la respiración por neumografía de impedancia y electrocardiografía. Se registraron los parámetros con un fisiógrafo CPM de Narco Bio system.

TETRADA CARDIOVASCULAR EN PERROS

En tres perros se midió la presión de la arteria femoral con un catéter de polietileno conectado a un transductor Statham P23AC, se practicó vagotomía bilateral, conectándose un par de electrodos al cabo vagal próximo al corazón, de tal manera que respuestas vasodepresoras podían inducirse usando un estimulador Grass S44. A continuación se procedió a practicar los siguientes ensayos: 1) Estimulación eléctrica del tronco vagal por 5 segundos. 2) Inyección de 10 ug/kg de acetilcolina. 3) Oclusión carotídea bilateral por 30 segundos y 4) Administración de 10 ug/kg de adrenalina. La fracción hidrosoluble Cf4 se inyectó I.V. a las dosis de 10, 30 y 100 mgs/kg. Se usó un polígrafo Grass 5D para registrar las respuestas.

FUERZA DE CONTRACCIÓN MIOCÁRDICA EN CONEJOS

A cuatro conejos bajo anestesia con ácido dialilbarbitúrico (60 mgs/kg) y uretano (200 mgs/kg)

se les midió la presión arterial en la forma usual, su tórax fue abierto y se suturó en la superficie ventricular izquierda un arco cardíaco de Walton para medir la fuerza contráctil miocárdica. La respiración fue mantenida artificialmente con una bomba respiratoria Harvard 607. Se usó Cf4 a las dosis de 10, 30 y 100 mgs/kg, registrándose las respuestas con un polígrafo Grass modelo 5D.

FLUJO CORONARIO

En un grupo de tres conejos se midió in vitro el flujo coronario, la frecuencia y contractibilidad cardíaca, usando la técnica de Langendorff modificada. Para medir la frecuencia y contractibilidad cardíaca se empleó un transductor isométrico FT. 03C. Las dosis agregadas al sistema de perfusión fueron de 10, 20 y 40 ug.

AURÍCULA AISLADA DE RATA

Se usaron las aurículas aisladas de tres ratas, fueron mantenidas en un baño termorregulado a 31°C, conteniendo solución Ringer-Locke a 31°C. La solución fue equilibrada mediante el burbujeo de una mezcla de 50/o de dióxido de carbono en 950/o de oxígeno. Se usó un transductor Grass modelo FT. 03C para registrar las contracciones auriculares. El voltaje umbral que alteró la frecuencia de contracción auricular y la frecuencia máxima de contracciones artificiales que pudo inducirse fueron determinados antes y después de la adición de la fracción hidrosoluble de Polypodium leucotomos, que se usó a las dosis de 10, 30, 100 y 300 ug/ml. Para estimular al tejido se usó un estimulador Grass modelo S 44.

FLUJO SANGUÍNEO FEMORAL MEDIDO ELECTROMAGNÉTICAMENTE EN PERROS

En un par de perros se estudió el flujo sanguíneo femoral usando un transductor de flujo electromagnético adaptado a un medidor de flujo de Narco-Biosystem modelo 5 T — 510 y se usó un fisiógrafo Narco-Biosystem CPM para registrar las respuestas. La fracción hidrosoluble de Polypodium leucotomos se administró por vía I.V. a la dosis de 100 mgs/Kg de peso corporal.

RESULTADOS

PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS ANESTESIADAS. FRACCIÓN HIDROSOLUBLE

Cf4 por vía oral.

Los primeros experimentos diseñados para medir la presión arterial y la frecuencia cardíaca en ratas a las que se administró la fracción hicirosoluble Cf4 por vía intraduoiénal revelaron un ligero y transitorio descenso de la presión arterial sin ningún cambio en la frecuencia cardíaca. (Ver cuadro 1). Cf4 por vía I.V.

En toaas las ratas que recibieron Cf4 por vía I.V. se produjo un descenso de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca, que fue directamente proporcional a la dosis administrada.

En grupos adicionales de ratas en los que se ensayó Cf4 producida en el laboratorio de fitoquímica o a un nivel de planta industrial se observó hipo-

tensión aun cuando los ensayos se practicaron en diferentes períodos de tiempo. El promedio obtenido al estudiar 6 ratas en 1974 fue de 127 mmHg (basal) A % = -43 (respuestas a 100 mgs/kg de Cf4 I.V.) en 1980 fue de 116 mmHg (basal) A % = -46.7 (respuesta a inyectar 100 mgs/kg I.V. de Cf4), en 1981 se estudiaron otras ratas adicionales y la respuesta fue parecida, o sea que en un período de 15 años no se han observado grandes cambios en las propiedades biológicas de la fracción hidrosoluble Cf4 de *Polypodium leucotomos*. (Ver cuadro 2).

PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS ANESTESIADAS ADMINISTRACIÓN DE Cf4 + Cf3

La presión arterial sistólica descendió ligeramente cuando se administró Cf4 + Cf3 por vía oral a la dosis de 180 mgs/kg, la duración del efecto fue de unos diez minutos, ulteriormente la presión sistólica se mantuvo inferior a los controles (aceite de oliva), a los 45 minutos nuevamente la presión

CUADRO 2

LIMITES DE SEGURIDAD PARA LA RESPUESTA HIPOTENSORA PRODUCIDA POR Cf4 (FRACCIÓN HIDROSOLUBLE DE POLYPODIUM LEUCOTOMOS) EN RATAS ANESTESIADAS

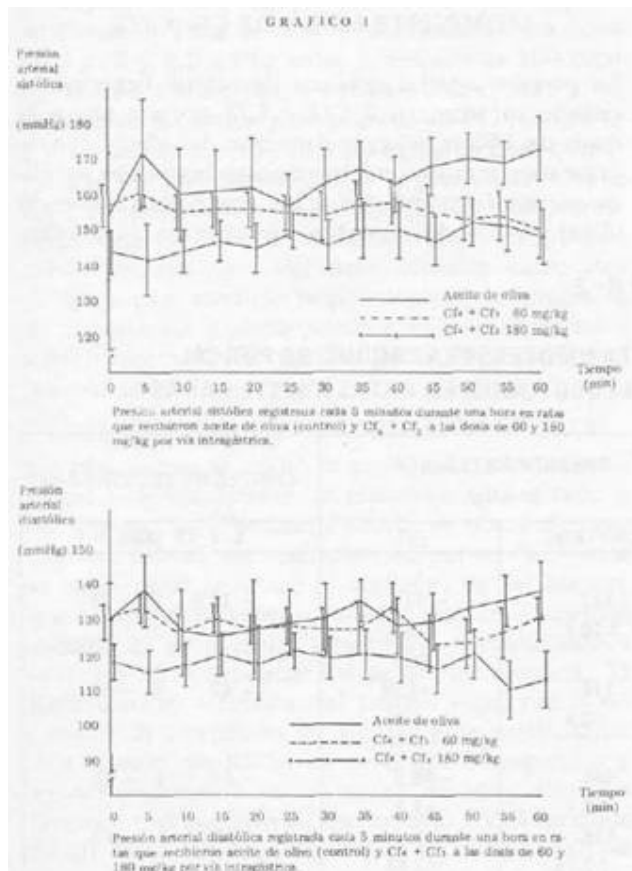
FECHA DEL ENSAYO	NUMERO DE RATAS (NUMERO DE INYECCIONES)	PRESION ARTERIAL* (mmHg)		LIMITES DE SEGURIDAD
		CONTROL	$\Delta\%$	$\bar{X} \pm 2 \text{ ES (95\%/o)}$
Cf4 1974 Fitoquímica	6 (6)	127 ± 10.8	- 43 ± 14.9 - 46.7	- 13.5 a - 73
Cf4 1980, Oct. Planta Ind.	5 (8)	116 ± 2.8	± 1.58	- 43 a - 50
Cf4 1980 Oct. - Dic.	10 (21)	106 ± 2.1	- 46.8 ± 3.0	- 41 a - 53
Cf4, 1981 Fitoquímica	9 (12)	116 ± 2.75	- 68 ± 2.64	- 62 a - 73
Cf4 1981 (1 - XI)	10 (12)	110 ± 3.1	- 74 ± 4.5	- 65 a - 83

* Los resultados se presentan como promedio \pm error standard del promedio.

se apartó de los controles durante 15 minutos de registro. Los cambios detectados en presión arterial diastólica fueron parecidos, no obstante la segunda fase de ligera hipotensión ocurrió a los 55 minutos.

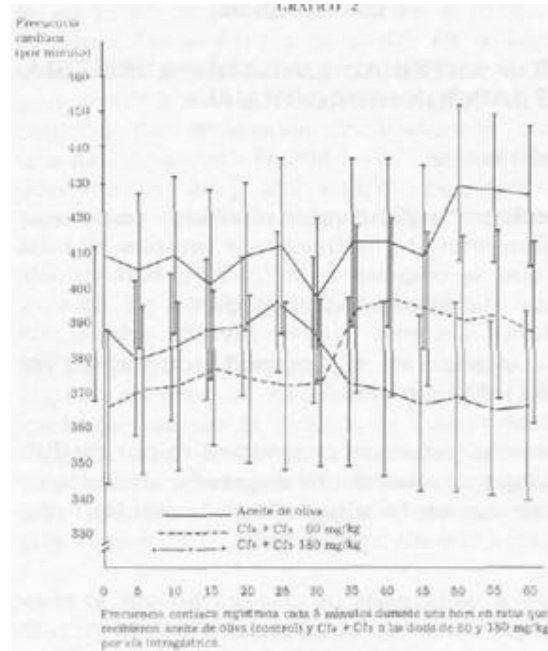
La frecuencia cardíaca después de la administración de Cf4 + Cf3 fue ligeramente más baja que la correspondiente a los controles (aceite de oliva) sobre todo entre los 50 y 60 minutos de registro (ver gráficos 1 y 2).

La frecuencia respiratoria fue menor en los animales tratados que en los controles, aunque este cambio no fue estadísticamente significativo.



PRESIÓN ARTERIAL SISTOLICA EN RATAS INTACTAS ADMINISTRACIÓN DE Cf4 + Cf3

Cuando se administró una emulsión cfe Cf4 + Cf3 en aceite de oliva por vía oral a las dosis de 60 y



180 mgs/kg, no se observó ningún cambio significativo en los parámetros estudiados, sin embargo, se observó cierta tendencia en la curva de presión arterial de los animales tratados a permanecer ligeramente por debajo de las ratas control (0.05 ml/100 gms de peso corporal). No se observaron cambios importantes en respiración o frecuencia cardíaca.

RATAS SIN ANESTESIAR TRATADAS CRÓNICAMENTE CON Cf4.

No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ratas controles y tratadas con Cf4 por vía oral diariamente, por un período de cuatro meses, en los parámetros estudiados: presión arterial sistólica registrada en la cola, frecuencia cardíaca o presión arterial. (Ver cuadro 3).

SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO Y AUTACOIDES

En todas las ratas que recibieron la fracción hidrosoluble Cf4 por vía I.V. se produjo un descenso de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca que fue directamente proporcional a la dosis administrada. En las ratas vagotomizadas bilateral-

CUADRO 3

ESTUDIO SOBRE PRESION ARTERIAL SISTOLICA, FRECUENCIA CARDIACA Y RESPIRACION EN RATAS WISTAR SIN ANESTESIAR, QUE RECIBIERON ALMIDON MAS AGUA O Cf4 POR UN PERIODO DE 4 MESES POR VIA DRAL

GRUPO (NUMERO DE ANIMALES)	PROCEDIMIENTO Dosis mgs/Kg	PRESION ARTERIAL SISTOLICA* (mmHg)	FRECUENCIA CARDIACA (Latidos/minuto)	FRECUENCIA RESPIRATORIA (Respiración/minuto)
RATAS HEMBRAS				
I (6)	Controles	± 101.5 ± 4.68	400 ± 20.62	115 ± 2.11
II (6)	Cf4 250 mgs /Kg	± 104 ± 5.04 P < 0.7	391 ± 25.70 P < 0.8	119 ± 3.26 P < 0.3
III (6)	Controles	± 113.5 ± 2.20	396 ± 19.6	129 ± 2.0
IV (6)	Cf4 500 mgs /Kg	110 ± 5.68 P < 0.6	391 ± 18.91 P < 0.8	134 ± 1.43 P < 0.1
RATAS MACHOS				
V (6)	Controles	110 ± 2.3	418 ± 14.5	117 ± 8.86
VI (6)	Cf4 250 mgs /Kg	107 ± 3.73 P < 0.5	398 ± 15.61 P < 0.4	127 ± 4.1 P < 0.3
VII (6)	Controles	99 ± 3.84	460 ± 31.94	127 ± 3.55
VIII (6)	Cf4 500 mgs /Kg	97 ± 5.76 P < 0.7	460 ± 31.85 P < 0.8	119 ± 9.96 P < 0.4

* Los datos expresan: promedio, error standard de promedio y probabilidad

mente, también se produjo un descenso de la presión arterial de magnitud similar a la de las ratas con los nervios vagos intactos, pero la braicardia fue menos acentuada. En todas estas ratas la respuesta se hizo evidente en los primeros dos minutos y la duración de la misma correspondió a la dosis inyectada. (Ver cuadro 4).

En tres ratas vagotomizadas y atropinizadas a las que se administró una dosis única de Cf4 de 300 mgs/kg se observó al igual que en el grupo anterior un descenso de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca de larga duración.

No hubo ninguna protección a los efectos de Cf4. Falta determinar si la atropina bloquea la respuesta a las dosis pequeñas de la fracción Cf4.

En otro grupo de tres ratas la administración de difenhidramina no bloqueó los efectos hipotenso-

res de la fracción Cf4, siendo la respuesta a la inyección de 100 mgs/Kg de la misma igual a A % = -40.

RESPUESTA A LA HISTAMINA

ANTES Y DESPUÉS DE Cf4, EN RATAS (CUADRO 5)

La administración de diclorhidrato de histamina a la dosis de 0.5ug/kg redujo o aumentó la presión arterial. La inyección de Cf4 a la dosis de 100 mgs/kg I.V. redujo la presión arterial (A % = -46.8 ± 3.0), la repetición de la dosis inicial de histamina 5 minutos después de Cf4 produjo un franco descenso de la presión arterial (A % = ~28.0 ± 5.6), existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre la respuesta inicial y final p < 0.5 (t de student). En un grupo adicional de 6

CUADRO 4
EFFECTOS DE Cf4 ADMINISTRADA INTRAVENOSAMENTE
SOBRE LA PRESION ARTERIAL Y FRECUENCIA CARDIACA DE RATAS ANESTESIADAS

DOSIS I. V. mgs/Kg	NUMERO DE RATAS (NUMERO DE INYECCIONES)	PRESION ARTERIAL* (mmHg)		FRECUENCIA CARDIACA* (latidos/minuto)	
		CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%
RESPUESTA A LA DROGA CON LOS VAGOS INTACTOS					
10	6 (6)	127.1 ± 13.4	- 26.3 ± 8.1	318 ± 16	- 15.15 ± 3.6
30	6 (6)	137 ± 8.7	- 23.2 ± 5.8	307 ± 10.7	- 10.2 ± 4.3
100	6 (6)	127.5 ± 10.8	- 43.26 ± 14.9	314 ± 13.9	- 34.0 ± 8.8
300	4 (4)	130.2 ± 9.1	- 60.5 ± 13.3	311 ± 25	- 51.4 ± 9.3
RESPUESTA A LA DROGA DESPUES DE VAGOTOMIA BILATERAL					
10	3 (3)	133 ± 12	- 32.4 ± 22.2	384 ± 18.3	- 1.5 ± 2.6
30	3 (3)	133.3 ± 12.0	- 48.5 ± 16.6	384 ± 18.0	- 9.6 ± 9
100	3 (3)	105 ± 7.9	- 47.1 ± 17.0	392 ± 10.6	- 10.9 ± 10

Los resultados se presentan como promedio y ± error standard del promedio.

CUADRO 5
EFFECTOS CARDIOVASCULARES PRODUCIDOS POR LA ADMINISTRACION
DE HISTAMINA ANTES Y DESPUES DE Cf4 100 MGS/KG/I. V.

PROCEDIMIENTO (NUMERO DE RATAS)	PRESION ARTERIAL ¹ (mmHg)		FRECUENCIA CARDIACA ¹ (Latidos/minuto)		FRECUENCIA RESPIRATORIA ¹ (Respiración/minuto)	
	CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%
ANTES DE Cf4						
Histamina 0.5 ug /Kg /I.V. (4)	87 ± 2.87	+ 1.7 ± 7.0	312 ± 21.9	+ 0.4 ± 1.3	72.5 ± 6.3	+ 1.7 ± 1.7
Histamina 1 ug /Kg /I.V. (6)	107 ± 4.7	- 4.2 ± 4.8	348 ± 12.1	- 1.9 ± 4.5	96.8 ± 5.7	+ 7.5 ± 3.5
Histamina 2 ug /Kg /I.V. (6)	112 ± 3.8	- 13.8 ± 2.7	358 ± 15.4	- 0.3 ± 1.2	100 ± 5.7	+ 2.4 ± 1.8
Histamina 4 ug /Kg /I.V. (3)	118 ± 2.4	- 16.8 ± 0.6	360 ± 23.5	- 0.35 ± 1.9	108 ± 4.9	+ 5.9 ± 3.4
Histamina 8 ug /Kg /I.V. (4)	120 ± 3.0	- 28.3 ± 6	363 ± 14.1	- 0.1 ± 1.9	105 ± 5.7	+ 14.6 ± 3.5
100 mgs/Kg/I.V. (10)	106 ± 2.1	- 46.8 ± 3.0	332 ± 10.2	- 3.9 ± 0.8	82.1 ± 4.2	+ 23 ± 3.36

1) Las resultados se presentan como promedio y - error standard del promedio.

CUADRO 5
EFFECTOS CARDIOVASCULARES PRODUCIDOS POR LA ADMINISTRACION
DE HISTAMINA ANTES Y DESPUES DE Cf4 100 MGS/KG/I. V.
(CONTINUA)

PROCEDIMIENTO (NUMERO DE RATAS)	PRESION ARTERIAL ¹ (mmHg)		FRECUENCIA CARDIACA ¹ (Latidos/minuto)		FRECUENCIA RESPIRATORIA ¹ (Respiración/minuto)	
	CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%
ANTES DE Cf4						
Histamina 0.5 ug /Kg /I.V. (4)	101 ± 4.8	-28.0* ± 5.6	314 ± 21.5	- 0.2 ± 1.7	72 ± 5.2	+ 3.0 ± 1.9
Histamina 1 ug /Kg /I.V. (6)	108.3 ± 5.7	- 30.8* ± 2.2	343.7 ± 13.7	- 0.4 ± 0.4	95 ± 4.7	+ 10.1 ± 3.8
Histamina 2 ug /Kg /I.V. (6)	108.3 ± 5.2	- 14.2 ± 2.0	344 ± 14.3	+ 2.3 ± 1.6	93.4 ± 4.9	+ 8.1 ± 3.8
Histamina 4 ug /Kg /I.V. (3)	112.5 ± 2.7	- 13.3 ± 2.5	354 ± 18.6	- 1.8 ± 1.05	108 ± 4.9	- 2.1 ± 4.9
Histamina 8 ug /Kg /I.V. (4)	107 ± 1.9	- 18.9 ± 1.8	354 ± 19.9	- 0.8 ± 0.7	100.5 ± 4.5	+ 7.5 ± 2.8

1) Los resultados se presentan como promedio y -error standard del promedio.

* Diferencias estadísticamente significativas comparado con los controles.

ratas para expandir el rango de dosis de diclorhidrato de histamina en 1, 2, 4 y 8 ug/kg con intervalos de 5 minutos antes y después de Cf4, 100 mgs/kg I.V. se observó también que con la dosis inicial de 1 ug/kg I.V. se produjo un descenso leve de la presión arterial (A % = -4.2 ± 4.8), no obstante al repetir la inyección 5 minutos después de Cf4 se produjo una franca disminución de la misma (A % = -30.8 ± 2.2) que fue estadísticamente significativa.

Es de hacer notar que las inyecciones de diclorhidrato de histamina a los 10 minutos (2 ug/kg), 15 minutos (4 ug/kg) y 20 minutos (8 ug/kg) después de 100 mgs/kg I.V. de Cf4 no produjeron aumento del efecto hipotensor de la histamina (no se encontraron diferencias estadísticamente importantes). El aumento de la respuesta hipotensora a la histamina producida por Cf4 desaparecía después de 10 minutos.

SEROTONINA ANTES Y DESPUÉS DE Cf4

La administración de 10 mgs/kg I.V. de serotonina redujo la presión arterial diastólica (A % = -36),

bradicardia (A % = -7.3), bradipnea o taquipnea predominando la segunda (A % = h 11.13). La inyección de Cf4 redujo la presión arterial (A % = -47) bradicardia leve (A % = -5.7) y taquipnea (A % = +14.7).

La repetición del procedimiento inicial (inyección de serotonina) indujo respuestas similares a la dosis primera y no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa (t de student). Para mayores detalles ver cuadro 6.

PROSTAGLANDINA EI ANTES Y DESPUÉS DE Cf4

La administración de prostaglandina El redujo la presión arterial sistólica y diastólica, respuesta que fue disminuida por la inyección I.V. de Cf4 a la dosis de 100 mgs/kg I.V.; el efecto fue más notorio con la dosis de 5 ug/kg de prostaglandina El y desapareció con la dosis de 10 y 20 ug/kg después de Cf4. Ver cuadro 7.

CUADRO 6
RESUMEN DE LOS EFECTOS CARDIOVASCULARES
Y RESPIRATORIOS DE LA 5-HIDROXITRIPTAMINA ADMINISTRADA ANTES Y DESPUES DE Cf4

PROCEDIMIENTO	PRESION ARTERIAL* (mmHg)		FRECUENCIA CARDIACA* (Latidos/minuto)		FRECUENCIA RESPIRATORIA* (Respiración/minuto)	
	CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%
SEROTONINA						
10 mg /Kg /I.V. antes de Cf4	1 ± 3.46	- 35.7 ± 3.4	328 ± 16.2	- 7.3 ± 1.98	70 ± 5.5	+ +11.13 ± 9.9
Cf4						
100 mg /Kg /I.V.	111.5 ± 2.8	- 46.7 ± 1.58	324 ± 16.0	- 5.74 ± 1.12	75.4 ± 7.3	+ +14.7 ± 8.3
SEROTONINA						
10 mg /Kg /I.V. después de Cf4	118. ± 2.46	- 36.2 ± 1.7	316 ± 13.46	- 14 ± 4	77 ± 5.14	+ +23 ± 12.2

Los resultados se presentan como promedio y - error standard del promedio.

CUADRO 7
PROSTAGLANDINA E1 ANTES Y DESPUES DE 100 mgs/Kg DE Cf4 POR VIA I.V.

PROCEDIMIENTO	PRESION ARTERIAL (mmHg)				FRECUENCIA CARDIACA (Latidos/minuto)		FRECUENCIA RESPIRATORIA (Respiración/minuto)	
	SISTOLICA		DIASTOLICA		CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%
	CONTROL	Δ%	CONTROL	Δ%				
Prostaglandina E₁ antes de Cf4								
5 ug /Kg antes de Cf4	143.2 ± 6.5	- 52.8 ± 6.5	132.4 ± 6.7	- 59 ± 6.8	380 ± 10.2	- 1.9 ± 4.9	97.5 ± 7.4	6.0 ± 5.8
10 ug /Kg antes de Cf4	141.2 ± 10	- 57.4 ± 4.1	127.0 ± 9.7	- 64.4 ± 3.8	382.0 ± 3.2	- 8.9 ± 2.8	103.0 ± 15.6	0.7 ± 4.0
20 ug /Kg antes de Cf4	140 ± 11.6	- 52.4 ± 2.3	128.0 ± 11.0	- 61.0 ± 3.1	384.0 ± 6.7	- 1.4 ± 3.3	108.0 ± 18.3	+ 20.3 ± 31.5
Prostaglandina E₁ después de Cf4								
5 ug /Kg después de Cf4	147 ± 6.9	- 27.0 ± 4.2	127.0 ± 6.9	- 29 ± 3.7	379.0 ± 8.4	+ 4.7 ± 1.9	89.0 ± 4.5	+ 4.0 ± 6.9
10 ug /Kg después de Cf4	141 ± 8.3	- 41 ± 4.4	123.0 ± 8.3	- 51.0 ± 4.9	399.0 ± 7.0	- 0.6 ± 2.4	88.0 ± 6.4	+ 9.7 ± 5.9
20 ug /Kg después de Cf4	141.2 ± 7.6	- 45.7 ± 4.6	120.0 ± 4.6	- 54.0 ± 4.7	405.0 ± 9.2	- 1.7 ± 3.1	86.0 ± 4.3	- 1.1 ± 9.4

Los resultados se presentan como promedio y terror standard del promedio.

SISTEMA CARDIOVASCULAR EN EL PERRO
(TETRADA)

Respuesta a la adrenalina. La administración de Cf4 por vía I.V. a la dosis de 100 mgs/kg produjo un ligero aumento de la respuesta a la adrenalina en lo atingente a la presión arterial pero no fue estadísticamente significativa, el aumento de la frecuencia cardíaca fue menor que cuando se dio la adrenalina sola. $p < 0.01$. Ver cuadro 8.

Respuesta a la acetilcolina. La administración de Cf4 por vía intravenosa a la dosis de 100 mgs/kg no modificó la hipotensión arterial producida por acetilcolina, sin embargo, la frecuencia cardíaca en vez de disminuir aumento. Este incremento no fue estadísticamente significativo. Ver cuadro 8

CUADRO 8
EFECTO DE LA FRACCIÓN Cf4 SOBRE LAS RESPUESTAS A INYECCIONES
INTRAVENOSAS DE ADRENALINA, ACETILCOLINA Y SOBRE LAS RESPUESTAS
A OCLUSIÓN DE LAS CAROTIDAS COMUNES Y A LA ESTIMULACIÓN DEL VAGO EN PERROS

PROCEDIMIENTO (NUMERO DE INYECCIONES, OCCLUSIONES O ESTIMULACIONES)	PRESION ARTERIAL* (mm Hg)			FRECUENCIA CARDIACA* (Latidos/minuto)		
	CONTROL		Δ %	CONTROL		Δ %
Adrenalina 10 ug /Kg I.V. (3)	118	9.3	78 \pm 11.0	100	26.48	26 \pm 3.78
Adrenalina después de Cf4 100 mgs /Kg (6)	100	9.6	89 \pm 11.5 $P < 0.30$	210	13.5	7 \pm 4.2 $P < 0.01$
Acetilcolina 10 ug /Kg I.V. (3)	121.7	11.67	57.3 \pm 12.67	200	20.02	6 \pm 6
Acetilcolina después de Cf4 100 mgs /Kg (3)	130	15.26	62 \pm 8 $P < 0.40$	200	20.02	11 \pm 11.01 $P < 0.40$
Estimulación vagal 8 segundos (6)	120	10.42	40 \pm 8.02	183	4.81	37 \pm 15.8
Estimulación vagal después de Cf4 100 mgs /Kg (7)	116	11.76	57 \pm 6.62 $P < 0.15$	213	12.56	48 \pm 4.86 $P < 0.35$
Oclusión carotídea 30 segundos (3)	118	9.3	48 \pm 7.2	170	10	28.3 \pm 4.2
Oclusión carotídea después de Cf4 100 mgs /Kg (9)	116.7	7.35	2 \pm 5.25 $P < 0.05$	195	9.84	4 \pm 2.78 $P < 0.05$

Los resultados se presentan como promedio y \pm error standard del promedio.

Respuesta a la estimulación vagal. Prácticamente no hubo diferencia entre la respuesta a la estimulación vagal antes o después de la administración de la droga a la dosis de 100 mgs/kg, ya sea en presión arterial o en frecuencia cardíaca. Ver cuadro 8.

Respuesta a la oclusión carotídea. La respuesta a la oclusión de ambas carótidas en todos nuestros experimentos fue un aumento inicial de la presión arterial y frecuencia cardíaca. La administración de la droga a la dosis de 100 mgs/kg produjo una abolición de la respuesta a la oclusión de las carótidas primitivas, tanto de la presión arterial como de la frecuencia cardíaca. Ver cuadro 8.

FUERZA DE CONTRACCIÓN MIOCÁRDICA EN CONEJOS

A dosis pequeñas de 10 y 30 mgs/kg I.V. de Cf4 se produjo un aumento de la presión arterial y de la fuerza de contracción cardíaca; sin embargo al inyectar la fracción hidrosoluble Cf4 a la dosis de 100 mgs/kg, la respuesta se invirtió. En estos experimentos, desafortunadamente por tener el tórax abierto las presiones basales iniciales siempre fueron bajas.

FLUJO CORONARIO EN CORAZONES AISLADOS DE CONEJOS

Se observó una reducción del flujo coronario y bradicardia al usar dosis elevadas 40 ug/dosis inyectadas al sistema de baja presión del aparato de Langendorff. La contractibilidad cardíaca aumentó con la dosis de 10 y 20 ug de Cf4. Ver cuadro 10.

MUSCULATURA AURICULAR AISLADA DE RATA

El único cambio consistentemente observado y proporcional a la dosis de Cf4 fue un descenso de la frecuencia de las contracciones del músculo auricular (Cuadro 11); sin embargo se produjeron muy pocos cambios en el voltaje umbral necesario para dirigir el músculo, sólo en la rata No. 1 los cambios podrían sugerir una disminución de la excitabilidad de la aurícula a la estimulación eléctrica; tampoco se produjo una reducción de la frecuencia a la que el músculo auricular puede ser conducido eléctricamente (sólo en la rata No. 2 se produjo una ligera prolongación del período refractario). Vale la pena destacar la observación de que la bradicardia auricular se acompañó de un aumento de la contractibilidad a las dosis de 10, 30 y 100 ug/cc y un descenso de la misma (caso No. 3) con la de 300 ug/cc.

FLUJO SANGUÍNEO FEMORAL EN PERROS

La administración de Cf4 por vía I.V. produjo un incremento del flujo sanguíneo de la arteria femoral. Este aumento probablemente se debe a un efecto vasodilatador.

DISCUSIÓN

Dos fracciones diferentes, una hidrosoluble (Cf4) y otra liposoluble (Cf3) fueron obtenidas a partir de rizomas o de hojas del helécho *Polypodium leucotomos* (Calaguala) y han sido empleadas para el tratamiento de la psoriasis, osteoartritis y

CUADRO 9

EFECTOS DE Cf4 ADMINISTRADO INTRAVENOSAMENTE, SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL, FRECUENCIA CARDÍACA Y FUERZA MIOCÁRDICA EN CONEJOS ANESTESIADOS

DOSIS DE Cf4 I. V. mg/Kg	NUMERO DE CONEJOS INYECCIONES) (NUMERO DE	PRESION ARTERIAL (mmHg)			FRECUENCIA CARDIACA (Latidos/minuto)			FUERZA MIOCÁRDICA		
		CONTROL	Δ%		CONTROL	Δ%		CONTROL	Δ%	
10	4 (4)	33 ±10	+ 11	±11	224 ±21.2	0	±0	9 ±0	+18.1	±13
30	4 (4)	32.5 ±2.5	+ 23	±5.9	222 ±6	+ 3	±2.6	10.2 ±2.2	+84	±15.7
100	4 (4)	56.7 ±4.4	- 75.6	±11.1	248 ±10.6	-91.8	±3.8	10.2 ±3.7	-84	±4.5

CUADRO 10
EFFECTOS DE Cf4 SOBRE EL FLUJO CORONARIO DE CORAZONES AISLADOS Y PERFUNDIDOS DE CONEJOS

DOSIS ug (NUMERO DE INYECCIONES:	CONTROL			TRATADOS			Δ %
	FLUJO CORONARIO (cc/mm)	FRECUENCIA CARDIACA (Lat./minuto)	FLUJO CORONARIO (cc/palpación)	FLUJO CORONARIO (cc/mm)	FRECUENCIA CARDIACA (Lat./minuto)	FLUJO CORONARIO (cc/contracción)	disminución o aumento
10 (3)	20 18.6 18.8	124 126 114	0.16 0.14 0.16	15 15.8 15.0	120 120 114	0.12 0.13 0.13	-25 -7 -19
Promedio E.S.P. \pm	19.1 \pm 8.2	124.3 \pm 3.7	0.153 \pm 0.014	15.3 \pm 2.7	118 \pm 2.0	0.127 \pm 0.018	-17 \pm 5.3
20 (3)	20.8 15.2 18.8	120 108 114	0.17 0.14 0.16	10.2 12.2 15	126 108 114	0.08 0.11 0.13	-52 -21 -20
Promedio E.S.P. \pm	18.3 \pm 1.6	114 \pm 3.5	0.156 \pm 0.024	12.5 \pm 1.4	116 \pm 5.3	0.106 \pm 0.026	-31 \pm 10.5
40 (4)	10.2 17.0 10.0 7.2	120 108 126 120	0.08 0.15 0.07 0.06	7.0 12.8 1.0 1.2	97.0 108 57 78	0.07 0.11 0.01 0.01	-22.0 -25.6 -85.7 -83.3
Promedio E.S.P. \pm	11.1 \pm 2.1	116.5 \pm 3.8	0.090 \pm 0.020	5.5 \pm 2.8	85 \pm 11.2	0.050 \pm 0.024	-54.4 \pm 17.4

CUADRO 11
EFFECTOS DE Cf4 SOBRE LA MUSCULATURA AURICULAR DE RATAS

RATA (No.)	DROGA AGREGADA AL BAÑO (ug/ml)	AURICULA ESPONTANEA Frecuencia por minuto (1)		UMBRAL Voltios (2)		AURICULA ARTIFICIAL Frecuencia por minuto (3)		
		CONTROL	Δ %	CONTROL	Δ %	CONTROL	Δ %	
1	10	130	-31	2	+30	360	0	
	30							-63
	100							-23
2	10	148	-16	2	0	330	-18	
	30							-26
	300							-73
3	30	140	-10	4.1	0	300	0	
	100							-92
	300							(paro)

dermatitis atópica con resultados aceptables desde el punto de vista práctico. Los hondureños usan la calaguala en forma de infusiones del rizoma para una gran variedad de padecimientos, lo que nos ha conducido a buscar las bases racionales de estas aplicaciones terapéuticas populares; sumado a lo anterior ha resultado de importancia estudiar los efectos cardiovasculares de este helécho como parte del cernimiento preclínico que rutinariamente realizamos de las plantas medicinales de Honduras. Los extractos han sido analizados químicamente, detectándose carbohidratos, terpenos, triterpenos, ferenos, viscianinas, diploptenos y otros grupos químicos, desconociéndose hasta el momento cuál de todas entre las decenas de estructuras químicas identificadas, es la activa o activas.

La administración de la fracción Cf4 hidrosoluble o su combinación con Cf3 (fracción liposoluble) produjo un efímero descenso de la presión arterial en ratas cuando se inyectó por vía del aparato gastrointestinal en animales anestesiados; en ratas intactas (sin intervenir quirúrgicamente) prácticamente no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos controles y tratados, aun en los casos en los que las ratas se trataron por cuatro meses con la fracción Cf4.

Cuando la fracción hidrosoluble Cf4 se inyectó por vía I.V. en ratas, se produjo una caída de la presión arterial proporcional a la dosis de calaguala inyectada.

Esta diferencia de la respuesta hipotensora observada en animales de experimentación, induce a pensar en la existencia de algún problema de biodisponibilidad gastrointestinal, por lo que es obvio que se necesita realizar experimentos específicos para despejar esta incógnita.

Cuando la fracción Cf4 se inyectó por vía intravenosa, en todos los casos se produjo hipotensión y bradicardia que puede llegar a matar al animal cuando se usan dosis grandes de dicha fracción. En el grupo de ratas vagotomizadas la hipotensión inducida con Cf4 fue de igual magnitud que la observada en las ratas con sus nervios intactos, aunque la bradicardia fue de menor magnitud. La administración de atropina no ofreció protección alguna a dosis altas de Cf4 inyectada I.V. en un grupo de tres ratas. La

droga no modificó la respuesta hipotensora producida por acetilcolina en otra serie de ratas; en los perros la hipotensión producida por la acetilcolina no fue modificada por la previa administración de la fracción Cf4 I.V., tampoco la hipotensión y bradicardia en respuesta a la estimulación eléctrica del nervio vago fue modificada por la inyección de calaguala. Todos estos hallazgos hacen pensar que la hipotensión y bradicardia producidas por Cf4 difícilmente podrían deberse a efectos muscarínicos como el provocado por la acetilcolina o por reflejos vagales en el aparato cardiovascular.

Es ampliamente conocido que gran número de sustancias producen hipotensión por liberación de histamina o por acciones parecidas a la de histamina, por lo tanto, se administró difenhidramina en algunas ratas en dosis lo suficientemente altas como para bloquear la respuesta a la histamina exógena inyectada I.V. Comprobado el bloqueo la inyección de Cf4 produjo igual hipotensión. En otros experimentos en los que se inyectó diclorhidrato de histamina antes y después de 100 mgs/kg de Cf4 I.V., esta fracción incrementó los efectos hipotensores de dosis pequeñas de histamina. Después de inyectar la fracción Cf4 se observó una reducción de la respuesta hipotensora a Prostaglandina E1. No se detectaron incrementos o decrementos significativos cuando se ensayó la serotonina.

Los experimentos relativos a la aurícula aislada de ratas no son concluyentes en cuanto a que Cf4 produzca un aumento del período refractario colegido indirectamente o que disminuya la excitabilidad eléctrica, sin embargo vale la pena mencionar que se produjo un aumento de la fuerza de contractibilidad auricular. La fuerza miocárdica fue incrementada en los conejos a los que se les suturó un arco de Walton a las paredes cardíacas *In vivo*. En la preparación de Langedorff la contractibilidad cardíaca aumentó a dosis pequeñas de Cf4. En todos los casos descritos se invirtió el efecto sobre la contractibilidad cardíaca al aumentar la dosis. El flujo coronario disminuyó y se produjo bradicardia en los corazones aislados de conejos que recibieron Cf4. En perros las dosis altas de Cf4 produjeron un bloqueo de la respuesta presora a la oclusión de ambas carótidas primitivas

que como es sabido, produce un incremento de origen reflejo de la presión arterial, sin embargo, ello no se acompañó de incremento de la vasodilatación, producida por estimulación eléctrica del nervio vago, ello apoyaría la hipótesis de cierto grado de bloqueo ganglionar, puesto que la fracción Cf4 también bloquea los efectos de la nicotina a nivel de intestino aislado de conejo. La calaguala no produce bloqueo alfa o beta, ya que no modificó los efectos presores de la adrenalina. Puesto que aumentó el flujo sanguíneo femoral, es factible pensar que la fracción Cf4 tiene efectos relajantes de la musculatura lisa vascular, aparentemente también puede relajar la musculatura lisa traqueal o intestinal. La fracción Cf4 pudiese tener cierto efecto inhibitor de la mediación central de los reflejos cardiovasculares.

En los pacientes la administración oral de Cf4 no ha producido efectos adversos. Los estudios preclínicos abren la posibilidad de investigar si administrada por vía I.V. en una preparación farmacéutica adecuada la fracción Cf4 de *Polypodium leucotomos* pudiese disminuir la presión arterial en pacientes hipertensos. Aparentemente

la fracción no posee efectos bloqueadores de calcio, como será discutido en un trabajo posterior. Tanto Cf4 como viscianina en otra serie de experimentos a dosis elevadas inhibió el gasto cardíaco del sapo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beltrán R., Mateo, M., Ascensión P.: "Comunicación sobre un nuevo tratamiento efectuado con 130 niños afectados de dermatitis atópica". Comunicación presentada en el: "Internat. Congress of Allergology and Clinical Immunol". Londres Oct. 1982.
2. Mendoza, M.V.; Castro S., Hugo: "Producto CECO 791 en osteoartritis. Evaluación abierta de su actividad terapéutica en 84 casos". Revista Médica Hondureña, vol. 50, No. 2. pág. 55-61. 1983.
3. Portillo Núñez, P. R.; Mendoza M, M.V.: "Extracto purificado de calaguala en el tratamiento de la psoriasis, en comparación con placebo, en un ensayo clínico controlado a doble ciego". Rev. Méd. Hondureña, vol. 53. pág. 8 a 17.1985.