

EFECTO DE LA FRACCIÓN CF4 DEL EXTRACTO DE POLYPODIUM LEUCOTOMOS SOBRE FIBROBLASTOS DE EMBRIÓN DE RATA CULTIVADOS "IN VITRO"

Lie. Elisa Ponce, Lie. Carlos Ponce y Dr. Pablo Cambar ()*

INTRODUCCIÓN:

La fracción CF4 del helécho *Polypodium leucotomos* es la fracción hidrosoluble del compuesto ANAPSOS que se usa en el tratamiento de la Psoriasis (1,2,3). En un trabajo previo Tabora demostró que la fracción CF4 tiene un efecto favorable en el crecimiento y maduración del colágeno (8). Posteriormente Horvath y Tabora encontraron que el tejido colágeno en la Psoriasis está alterado tanto en la piel afectada como en la sana en forma similar a otras colagenosis (5). Partiendo de estos antecedentes y con el objeto de conocer más sobre los posibles mecanismos de acción de dicha fracción se ha realizado éste estudio para determinar el efecto que tiene sobre fibroblastos cultivados "in vitro" al ser estas células eminentemente productoras de colágeno.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Se usó la fracción hidrosoluble CF4 de *Polypodium* esterilizada por filtración (filtro millipor 0.22 micras) en concentraciones de 10, 20, 50 y 100 microgramos por ml. de medio de cultivo. Las células fueron obtenidas de embriones de ratas Wistar de 18 días de gestación mediante la técnica de cultivo primario (6,7). Los fibroblastos fueron inocu-

lados con las diferentes dosis de CF4 24 horas después de iniciados los cultivos el número de células al inicio fue de 1.5×10^4 células /ml. Se usó medio de cultivo MEM (Minimal Essential Medium) de la casa FLOW Laboratories, con 50/o de suero fetal bovino y sin antibióticos. Los cultivos se hicieron en tubos de leighton 16X100 mm. con un cubreobjetos de 22X7 mm en su interior con el objeto de poder hacer coloraciones con Giensa de los fibroblastos a diferentes tiempos sin cambio de medio.

Se hicieron cultivos en botellas planas de 1.25 ml. para hacer conteos de células mediante tripsinización del cultivo a las 48, 72, 144, 168, 192 y 216 horas después de iniciados los cultivos.

Los conteos se hicieron en un hemocitómetro tipo Neubauer y las células fueron teñidas con colorantes vital azul de trypan. Los controles fueron tratados en la misma forma excepto que no se les puso la fracción en estudio. Una botella de cultivo correspondiente a cada concentración así como de control se dejaron para determinar la longevidad de las células mediante observaciones al microscopio invertido. Los cultivos fueron incubados en 37°C en atmósfera de aire con 50/o de CO₂. El experimento se hizo 4 veces con fibroblastos obtenidos de 4 ratas diferentes.

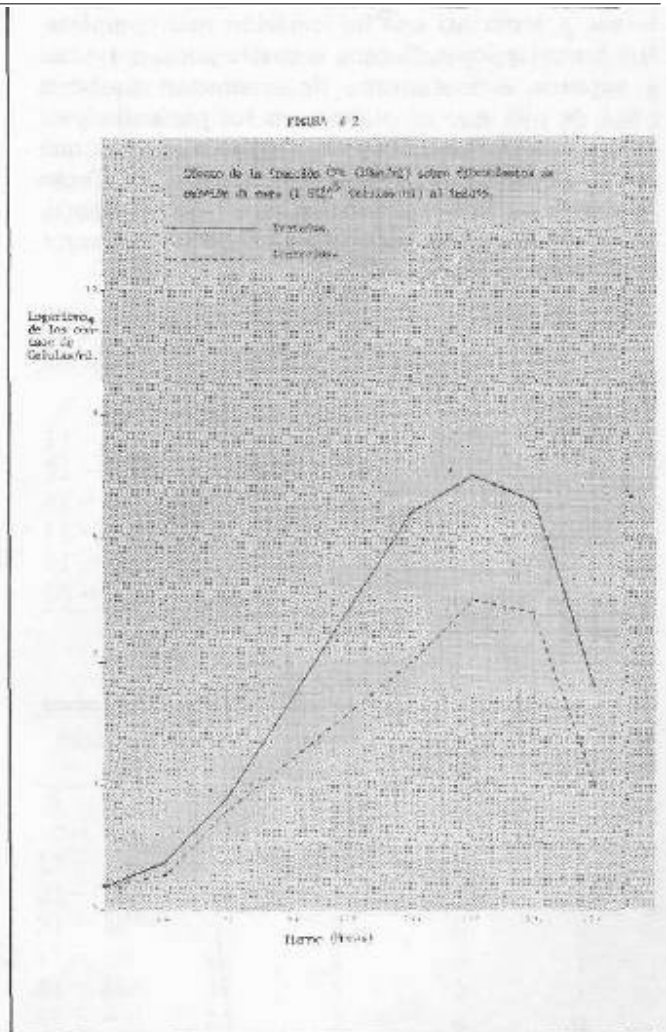
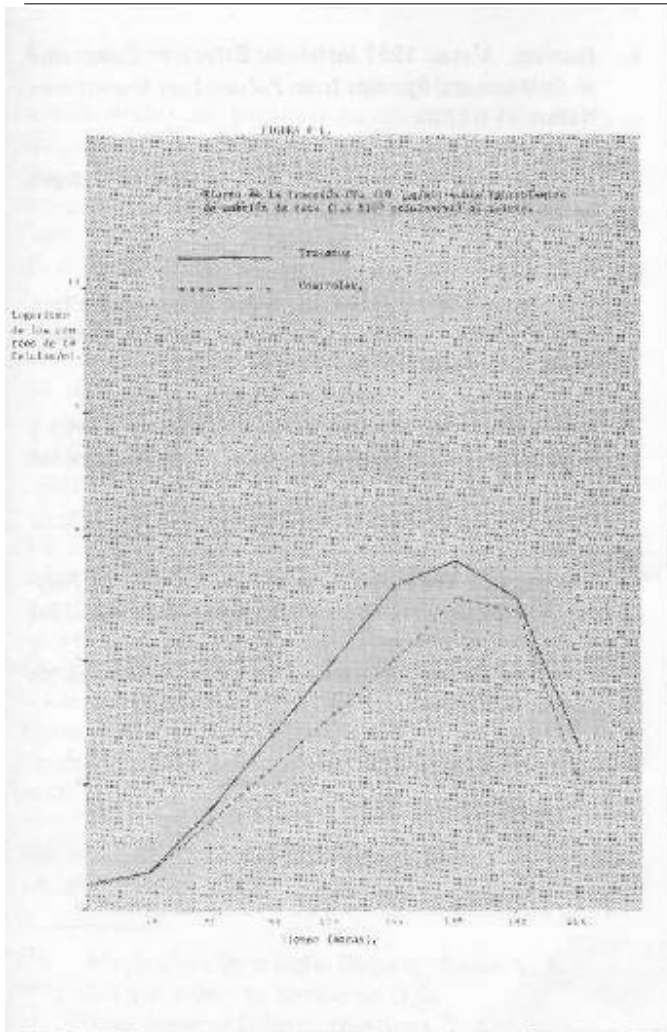
RESULTADOS.

Ninguna de las dosis utilizadas tuvieron un efecto letal para los cultivos de fibroblastos de embrión

(*) Centro Investigación y Desarrollo Conrad-Conadi. Tegucigalpa, Honduras, C. A.

de ratas. Las observaciones morfológicas hechas de las preparaciones coloreadas con Giemsa muestran una diferencia entre los tratados y los controles, los tratados se ven con citoplasma más límpido y núcleos definidos y mayor uniformidad en su morfología (husos bien definidos y con arreglo simétrico) y una mitosis activa, estas características se mantuvieron hasta la última coloración a las 144 horas de inoculadas. En cambio en los controles se observan que la morfología de las células es menos uniforme y su arreglo es menos simétrico y a medida que pasa el tiempo estos cambios se acentúan apareciendo signos de degeneración celular

como ser el apareamiento de granulaciones citoplásmicas y vacuolización del núcleo. La proliferación celular fue mayor siempre en los cultivos tratados con las cuatro dosis de CF4, que los controles figura 1 y 2. Sin hacer cambio de medio los cultivos tratados con CF4 en las cuatro dosis tuvieron una vida más larga que los controles, en los tratados en la mayoría de los casos las células estuvieron viables hasta por 576 horas, en cambio en los controles las células siempre murieron completamente entre las 192 y 216 horas. Los resultados fueron siempre similares en las cuatro veces que se hizo el experimento.



DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos de estos experimentos indican que la fracción CF4 del *P. Leucotomos* a las concentraciones usadas tiene un efecto beneficioso sobre los fibroblastos de embrión de rata "in vitro" al aumentar el número de células y mantenerlas por mayor tiempo y más saludables que los controles. Sin embargo estas apreciaciones se basan únicamente en las diferencias encontradas en los conteos de células y los aspectos morfológicos de las mismas practicados a diferentes tiempos, esto hace indispensable repetir los experimentos y procurar conocer por métodos bioquímicos e histológicos la producción cualitativa y cuantitativa de colágeno en este tipo de cultivos celulares, así como poder determinar en ellos ADN ARN y proteínas y tener así una información más completa. No obstante los hallazgos actuales pueden ayudar a explicar el mecanismo de reparación tisular a nivel de piel que se observa en los pacientes psoriáticos al ser tratados con un medicamento que contenga esta fracción que pudiera tener un efecto favorable en la normalización cualitativa y cuantitativa del colágeno, coincidiendo con los hallazgos de Horvath y Tabora (5).



BIBLIOGRAFÍA

1. Corrales, P. H.; Láinez, H. and Pacheco, J. 1974. *Polypodium leucotomos*: A new agent (Hydrophilic fraction of *Polypodium leucotomos*) for the management of Psoriasis. Proceeding of Dermatology. Padua - Venice. Excerpta Medica Amsterdam. P. No. 502.
2. Corrales, P.H.; Láinez, H. y Pacheco, J. 1972. Calagualina: Su ensayo en el tratamiento de la Psoriasis. Rev. Med. Hondurena. 40:253.
3. Corrales, P. H.; Láinez, H. and Pacheco, J. 1974. *Polypodium leucotomos*: A new agent for the management of Psoriasis. International Journal of Dermatology. 275:82.
4. Horvath, A et al. 1967 Metabolic Effects of Calagualine an Anti-tumoral Saponin from *Polypodium leucotomos*. Nature 214:1226.
5. Horvath, A and Tabora, E. 1972 Alteration of Collagen in Psoriatic Skin Dermatologica 144: 83-91.
6. Laboratory Techniques in virology. 1970 U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service. Center of Disease Control. Atlanta, Georgia. U.S.A.
7. Pelón, W. 1964. Manual de Laboratorio para virus y Rickettsias pp 23-29. Publicaciones de la Universidad de Costa Rica. Serie de Ciencias Médicas No. 24, San José, Costa Rica.
8. Tabora, J.E. 1970 Efecto de la fracción CF4 de *Polypodium leucotomos* en ratas albinas. Metabolismo del colágeno. Tesis de grado Universidad Nacional Autónoma de Honduras.