

ALGUNOS ASPECTOS DE LOS GENEROS AGAVE Y FOURCREA COMO CAUSANTES DE ENFERMEDADES OCUPACIONALES

Resumen del Trabajo de Tesis presentado por AFIFE
MRAD ORTEGA para optar al título de Químico Farma-
céutico de la Universidad Nacional de Colombia.

Presidente de Tesis: Dr. JUAN F. THEILKUEHL.

PROLOGO

En las industrias de transformación del fique, tales como las fábricas de empaques de este material, se presentan con frecuencia dermatitis. Estas también se presentan en el personal campesino que trabaja con las hojas del fique para la obtención de la fibra, pero el fenómeno pasa generalmente desapercibido. En las grandes empresas de manufactura las lesiones cutáneas han venido a constituirse en problema de salud ocupacional, problema al cual se han sumado, además, enfermedades pulmonares y afecciones bronquiales.

A. ROBLEDO-CLAVIJO y G. CANO-PUERTA, en el I y II Seminarios Colombianos de Salud Ocupacional, reunidos respectivamente en Medellín y Cali, expresaron la creencia de que las manifestaciones que se presentan en los obreros que laboran la fibra del fique (cabuya) podrían ser debidas a mecanismo alérgico. Posteriormente analizaron las lesiones, efectuaron un estudio farmacológico y clínico y conceptuaron sobre el origen y la prevención de las mismas. Este trabajo fue presentado a la Academia de Medicina de Medellín y al Premio "José Celestino Mutis" de Medicina Experimental de la Fundación "Camilo Mutis" de la Universidad Nacional de Colombia. El trabajo, titulado "Agavisis, un Síndrome Provocado por el Contacto con Fibras de las Plantas de la Familia Agavaceae", obtuvo el Premio "José Celestino Mustis" 1962 y fue publicado en "Antioquia Médica" 13 : 405-448 (1963).

Los autores llegaron a la conclusión, entre otras, de que las lesiones (dermatitis, rinitis y asma) que se presentan en el personal que trabaja la cabuya en la fábrica de la "Compañía de Empaques S. A." de Medellín, consisten en "...una verdadera dermatosis ocupacional producida por un irritante primario y una neumoconiosis menor" y que "... las pruebas intradérmicas... parecen suficientemente demostrativas de la existencia de un proceso de naturaleza alérgica". No hicieron estudio fitoquímico ni indican cuál es el posible agente irritante primario responsable, por lo menos, de la dermatitis, ni aislaron el alérgeno. Nuestro propósito, en el presente estudio, es el de aislar el agente irritante primario a que los autores mencionados atribuyen las lesiones, y de aclarar el mecanismo por el cual el fique produce esas lesiones, así como el de encontrar explicación satisfactoria para algunos fenómenos químicos y farmacológicos que mencionan Robledo y Cano en su trabajo.

Con la aclaración del mecanismo que produce la "Agavosis" se obtendrán las bases para estudiar las formas de prevención y curación de las lesiones, finalidad última de estas investigaciones.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

A) CLASIFICACIÓN.

B) CARACTERES.

A) Clasificación.

Reino: Vegetal.

Clase: Angiospermae.

Sub-clase: Monocotiledoneae.

Orden: Liliflorae.

Familia: Amarilidaceae.

Género: Agave, Fourcrea.

Especies: (que en Colombia se denominan "fique"):

Fourcrea Cabuya Trelease

Fourcrea Commelyni Kunth

Fourcrea Humboldtiana Trelease

Fourcrea Macrophylla Baker.

B) Caracteres.

Son plantas herbáceas, altas, de raíz fibrosa, que parten de un rizoma o cabeza y un corto tallo de donde salen las hojas ("pencas") dispuestas en rosetas, gruesas y pulposas, de uno a dos metros de longitud, treinta centímetros de ancho, verde grisáceas, provistas de espinas marginales y de una espina en la extremidad.

Florece una sola vez (generalmente a los diez o doce años), produciéndose las flores en grupos colocados en la parte superior de un tallo ("quiotte") de tres a ocho metros de altura, revestido de brácteas. Las flores son hermafroditas con un periantio de seis piezas verdosas, seis estambres con grandes anteras versátiles y un ovario ínfero trilocular, con numerosas semillas negruzcas y comprimidas.

En los "magueyes" cultivados y en muchos silvestres las semillas se atrofian y la propagación se hace por hijuelos (1, 2).

Fourcroya tiene hojas apuntadas pero no terminadas en espina, márgenes sin espinas o con ellas, pero muy pequeñas, periantio en un plano. Según "Naturlichen Pflanzenfamilien" (3) para el cual revisaron el grupo Amarilidáceas Pax y Hoffmann, la distinción es esta; Agave: estambres más largos que el perigonio; Fourcroya: estambres más cortos que el perigonio. Notemos también que el nombre de Fourcroya es sinónimo de Furcraea, Fourcraea y Furcroya.

En los jardines botánicos europeos no falta una sección de Agave y Furcroya que llama mucho la atención de los visitantes, quienes creen con mirarlos, que viajan por México y Arizona (4).

Localización geográfica.

Los géneros Agave y Furcraea son plantas originarias de la América Meridional y se encuentran desde México hasta el norte de Suramérica, incluyendo las Antillas, en alturas que van desde el nivel del mar hasta los 3.000 metros. En Colombia se hallan distribuidos por toda la zona andina. Se han reconocido las especies Fourcraea Cabuya Trelease, F. Commelyni Kunth, F. Humboldtiana Trelease y F. Macrophylla Baker (5).

Usos medicinales.

El "maguey" ha gozado de fama desde muy antiguo como planta medicinal en México (4). Es también muy popular en nuestra medicina indígena. Machacadas las pencas y aplicadas en cataplasmas, provocan la supuración. Sirven para desalojar el piojo de las bestias. La infusión de la raíz es depurativa. Las raíces del Agave son fortificantes y se mezclan a las de la zarzaparrilla, no solo para falsificarlas sino porque dicen, tienen su valor curativo (6).

Utilidad agrícola e industrial.

La fibra se usa principalmente en la confección de sacos o costales para el empaque del café, uso este muy importante si tenemos en cuenta

que es el café el renglón principal en nuestra economía. La explotación del fique era entre nosotros una pequeña industria, a veces casera, pero muy popular. En los últimos años se ha intensificado y tecnificado su cultivo y aprovechamiento, siendo actualmente una industria en grande escala. Las dos instalaciones principales en Colombia son: Hilanderías del Fonce, en San Gil (Santander) y la Compañía de Empaques S. A. de Medellín (Antioquia).

Antiguamente se limitaba la explotación a plantas sembradas para servir de setos o a pequeñas plantaciones alrededor de las casas de campo. Actualmente, debido a la importancia que ha venido cobrando la fibra por su gran utilidad y facilidad de obtención, podemos encontrar extensas áreas cultivadas. Esta planta se da casi en todas las condiciones; para que su rendimiento sea mayor, necesita de un suelo bueno y ciertos cuidados.

Ha habido un error en nuestros cultivos al suponer que se podía cultivar fique en tierras malas como si el prosperar en ellas las plantas implicara buena calidad de la fibra. Está probado lo contrario (4).

Además de su utilidad principal en la confección de empaques para café y muchos otros artículos, esta fibra tiene otros usos como son: la fabricación de cordelería, tapetes, colchones y alpargatas.

Con las plantas jóvenes o embriones preparan un encurtido; cocinan la planta para quitarle las sustancias mucilaginosas y luego le agregan aceite, sal y vinagre.

El zumo de las hojas es algo cáustico y las lavanderas lo emplean para facilitar su trabajo, especialmente para el lavado de ropas delicadas, que serían alteradas por el jabón en su color o en su resistencia. Por las saponinas que contiene, la planta se usa como veneno de pesca (6).

Composición química del Agave.

Como principal componente del Agave se destacan las saponinas en cantidades que han sido reportadas hasta del 24%.

También se destacan los azúcares, los cuales se encuentran en cantidad apreciable.

Estos hidratos de carbono han sido estudiados por Madinaveitia y Orozco (7) quienes los han aislado e identificado en el zumo de las hojas y en el "aguamiel".

Mucho se ha discutido sobre la constitución del azúcar de maguey. Michaud (8) en 1892 pretendió que se trataba de un azúcar especial, al que llamó agavosa; ya en 1895 Stone (9) demostró que se trataba de sacarosa. La discusión se ha pretendido reanudar recientemente, alegando

diferencias en el punto de fusión y en la facilidad de fermentación. El problema parece estar resuelto en México con mucha anterioridad a la publicación de Michaud. En 1858 Pontes y Chousal obtuvieron industrialmente muestras de azúcar de maguey con caracteres idénticos al azúcar de caña. En 1874 dice Río de la Loza que el azúcar de agave desvía el plano de la luz polarizada hacia la derecha, lo mismo que la sacarosa (10).

Se ha encontrado también en el maguey una goma verdadera; es la goma de excreción que se produce en la superficie de las hojas como reacción a la picadura de los insectos. Por hidrólisis da una pentosa y galactosa, contiene muchas cenizas en cal. Su análisis da 20.3% pentosanas 42.1% galactana, 2.2% cenizas, 1.46% cal (7).

También el estudio de los componentes inorgánicos ha dado datos interesantes (7):

	Humedad	Sólidos a 100°	Azúcares totales	Cenizas	P ₂ O ₅	Alcalinidad cenizas en CaC ₂ O ₄
Penca en castración .	91.07	8.93	2.35	0.42
Penca en producción	82.20	17.80	9.8	0.59	0.023	1.08
Aguamiel correspondiente	85.3	14.70	10.5	0.38	0.030	0.13
Penca agotada . . .	93.52	6.48	0.51	0.58

Los datos están en tanto por ciento en el material fresco. Vemos lo rica en agua que es la hoja de maguey a pesar de la consistencia que le dan sus fibras.

Para los azúcares la concentración en el aguamiel y en la penca que lo produce son sensiblemente iguales (11).

PARTE EXPERIMENTAL

Material empleado.

Los géneros Agave y Fourerea están poco estudiados en Colombia. El señor Hernán Cardozo* está llevando a cabo un interesante trabajo de clasificación de las especies existentes en nuestro país, entre ellas las que son objeto del presente trabajo. Este trabajo no está concluído, y por esta razón nos vemos imposibilitados para suministrar en la fecha la clasificación técnica exacta.

* HERNAN CARDOZO. "Estudios sobre el género Fourerea", manuscrito inédito. Bogotá. 1963.

El material que se utilizó para las investigaciones procede de Santander y Cundinamarca. El material procedente de San Gil (Santander) está sin clasificar debido a que la planta no ha florecido; el espécimen se encuentra en el patio de la fábrica Hilanderías del Fonce (San Gil). El material de Cundinamarca procede de diversas localidades. Los especímenes de este material se encuentran depositados en el Herbario Nacional Colombiano, en el Departamento de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional.

	Procedencia	Nombre vulgar	Número de colección (H. C.)
Muestra N ^o 1	San Gil	“Uña de Aguila” . .	—
Muestra N ^o 2	Pacho	“Espada”	139 (H. C.)
Muestra N ^o 3	Pacho	“Henequén”	142 (H. C.)
Muestra N ^o 4	Pacho	“Castilla”	138 (H. C.)
Muestra N ^o 5	Pacho	“Uña de Aguila” . .	145 (H. C.)
Muestra N ^o 6	Laguna de La Herrera.	“Fique” o “Cabuya”	2 (H. C.)

Fibra en proceso industrial.

Para pruebas de confrontación entre material vegetal (hoja de fique) y material ya en proceso de manufactura, dispusimos de muestras de fibra suministradas por la empresa Hilanderías del Fonce, de San Gil (Santander), y muestras de fibra enviadas por la empresa Compañía de Empaques S. A., de Medellín (Antioquia). Dichas muestras fueron tomadas durante diversas fases del proceso de elaboración de la fibra. Según informes de estas empresas, las muestras de “fibra mal lavada” (“fibra café”) proceden del Departamento de Boyacá, mientras que la “fibra bien lavada” procede de Antioquia, Santander y Cundinamarca.

Ensayos cualitativos para saponinas.

1. *Prueba de espuma:*

Se prepararon extractos acuosos de hojas frescas trituradas, hojas secas molidas y fibras subdivididas en trozos de 2 cm., en proporción de una parte de material por 5 partes de agua. La agitación de estos líquidos acuosos, en presencia de saponinas, debe dar espuma persistente.

De acuerdo con este criterio, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Extracto	Procedencia	Resultado
Hojas frescas, muestra N ^o 2	Pacho	(+)
Hojas frescas, muestra N ^o 3	Pacho	(+)
Hojas frescas, muestra N ^o 4	Pacho	(+)
Hojas frescas, muestra N ^o 5	Pacho	(+)
Hojas frescas, muestra N ^o 6	La Herrera	(+)
Hojas secas, muestra N ^o 1	San Gil	(+)
Hojas secas, muestra N ^o 2	Pacho	(+)
Hojas secas, muestra N ^o 3	Pacho	(+)
Hojas secas, muestra N ^o 4	Pacho	(+)
Hojas secas, muestra N ^o 5	Pacho	(+)
Hojas secas, muestra N ^o 6	La Herrera	(+)
Fibra mal lavada	San Gil	Dudoso
Fibra mal lavada	Medellín	Dudoso
Fibra bien lavada	San Gil	(-)
Fibra bien lavada	Medellín	(-)

2. Prueba de Hemólisis:

Esta prueba se efectuó con extractos desarrollados en solución salina isotónica (11). Los extractos de hojas frescas se elaboraron a partir de hojas trituradas en mortero de porcelana con dos veces su peso de solución salina; el producto de la trituración se maceró por tres horas y se filtró por papel. Concentración final del extracto respecto a hoja fresca = 1:2. Los extractos de hojas secas se elaboraron a partir de material secado a peso constante a 40°C y pulverizado al máximo posible, macerándolo en 10 veces su peso de solución salina por 3 horas y filtrando por papel. Concentración final del extracto respecto a hoja seca = 1:10.

Los resultados de la prueba de hemólisis se expresan en el siguiente Cuadro:

Extracto	Procedencia	Conc.	Resultados al cabo de:		
			1 min.	5 min.	1 h.
Hojas frescas, muestra N ^o 2	Pacho	1:2	(+)	(+)	
Hojas frescas, muestra N ^o 3	Pacho	1:2	(+)	(+)	
Hojas frescas, muestra N ^o 4	Pacho	1:2	(+)	(+)	
Hojas frescas, muestra N ^o 5	Pacho	1:2	(+)	(+)	
Hojas frescas, muestra N ^o 6	La Herrera	1:2	(+)	(+)	
Hojas secas, muestra N ^o 1	San Gil	1:10	(+)	(+)	
Fibra "bien lavada"	San Gil	1:10	(-)	(-)	(-)
Fibra "bien lavada"	Medellín	1:10	(-)	(-)	(-)
Fibra "mal lavada"	San Gil	1:10	(-)	(+)	(+)
Fibra "mal lavada"	Medellín	1:10	(-)	(+)	(+)

3. Pruebas de coloración:

Las pruebas de coloración para saponinas no se aplican bien a tejidos vegetales ni productos impuros, lo que las hace poco útiles. No obstante se ensayaron las siguientes:

a) Reacción yodo-yodurada (12), útil para cortes de tejido.

b) Reacción con tricloruro de antimonio (13), útil para materiales varios.

Material	Procedencia	RESULTADOS	
		a) I —IK	b) Cl Sb
Hojas frescas, muestra N ^o 2	Pacho	Dudoso	
Hojas frescas, muestra N ^o 3	Pacho	Dudoso	
Hojas frescas, muestra N ^o 4	Pacho	Dudoso	
Hojas frescas, muestra N ^o 5	Pacho	Dudoso	
Hojas secas, muestra N ^o 1	San Gil		(+)
Fibra "bien lavada"	San Gil		(-)
Fibra "bien lavada"	Medellín		(-)
Fibra "mal lavada"	San Gil		(-)
Fibra "mal lavada"	Medellín		(-)

De los resultados de las pruebas descritas podemos deducir siguiente:

Mediante la reacción de coloración con yodo-yoduro en corte de tejido vegetal fresco no es posible detectar saponinas con seguridad. La reacción de coloración con tricloruro de antimonio detecta saponinas en tejido vegetal seco. En las muestras de fibras no es posible detectar saponinas por esta reacción.

La prueba de espuma, la más sencilla para saponinas, da resultado positivo en todos los materiales vegetales, tanto frescos como secos. Esta prueba no detecta saponinas en muestras de fibras "bien lavadas", y en fibras "mal lavada" da resultado dudoso.

La prueba de hemólisis es la más específica y la más sensible de todas las técnicas para determinar cualitativamente saponinas. Esta prueba da resultado positivo en todas las hojas frescas y secas de fiqu examinadas, y detecta saponinas en las muestras de fibras "mal lavadas". Dada la sensibilidad de esta prueba, debemos aceptar estos resultados como seguros.

Preparación del material para su extracción.

Las hojas se lavaron con agua para librarlas de polvo.

Cuando no fue posible trabajar sobre material fresco, las hojas se subdividieron en trozos y se secaron a la estufa a 40°C hasta humedad inferior al 3%; el contenido de agua del material fresco es del 90 al 95%. Estas determinaciones fueron efectuadas a la lámpara infrarroja.

La temperatura de desecación no debe ser alta, ya que los azúcares que contiene la planta caramelizan e interfieren posteriormente en la extracción. El material seco se molió para subdividirlo al máximo.

Es imposible obtener un polvo homogéneo por la fibra que caracteriza a la hoja.

Cuando el material no ha de emplearse fresco, debe procederse a su rápida desecación, pues los azúcares en medio húmedo fermentan con suma facilidad.

Ensayos tentativos de extracción de saponinas.

Con el objeto de obtener saponinas puras destinadas a los ensayos farmacológicos comparativos con los extractos totales, se hizo el intento de aislar estos principios activos. Durante estos ensayos se observó la dificultad en aislar las saponinas del Agave. Antes de poder desarrollar un método satisfactorio para este propósito hubo de ensayarse los diversos métodos generales y otros más o menos especiales, indicados por diversos autores, que a continuación se describen y con los resultados que se anotan para cada uno.

Método de L. Rosenthaler (14), para obtener saponinas. Este método no da resultados satisfactorios. La cantidad de saponinas obtenibles del Agave es mínima. De cantidades de material hasta de un kilo de planta fresca, solo pudimos obtener tan poca saponina que fue imposible purificarla. Además el proceso es largo y dispendioso.

Extracción por solventes:

- a) *Extracción con agua.*
- b) *Extracción con alcohol.*

a) *Extracción con agua:*

Este procedimiento se llevó a cabo según técnica descrita por Jones, Nelson y Colorado (15), para Agave.

b) *Extracción con alcohol* (Alcohol de 60%):

Trease (16) describe una técnica para la extracción de saponinas de Sénega basada en extracción con alcohol de 60% y posterior precipitación con mezcla etero-alcohólica. Aplicamos esta técnica al Agave.

Aunque el método da resultados aceptables, es inferior a técnicas seguidas posteriormente. La adición de éter para desengrasar, precipita parte de las saponinas, que quedan adheridas luego a las paredes del embudo de separación. En vez de mezcla etero-alcohólica, puede añadirse en la fase de precipitación éter solo, con lo cual se aumenta el rendimiento. La separación de las saponinas por filtración es difícil, lenta, y ocasiona pérdidas considerables.

Extracción con alcohol (Alcohol de 70%) :

Siguiendo otra técnica indicada por Jones y colaboradores (15), se desengrasó el material previamente por extracción con éter sulfúrico por 24 horas en extractor de Soxhlet. El polvo se libró de éter por exposición al aire.

A continuación, según indican los autores mencionados, se debe extraer el material con alcohol de 70% ; la razón para este cambio consiste en que la extracción continua, en el aparato descrito, no se hace realmente con alcohol de 70% sino con un alcohol superior a los 90% en que las saponinas son prácticamente insolubles.

Según la técnica original el extracto obtenido de esta manera se adiciona de un exceso de alcohol de 96%, para precipitar las trazas de gomas que contiene. Sin embargo, este procedimiento es inadecuado porque las saponinas también son insolubles en alcohol de título elevado. El líquido alcohólico se concentra por destilación al vacío y luego se precipitan y separan las saponinas por adición de éter, sedimentación y decantación. Según los citados autores, las saponinas finalmente se secan a la estufa a 35-40°, obteniéndose un residuo amorfo ligeramente amarillento.

La maceración alcohólica obtenida de acuerdo con nuestra modificación al método no puede concentrarse por destilación al vacío, ya que se forma gran cantidad de espuma que dificulta la operación y de la cual parte pasa al destilado con la consiguiente pérdida de saponinas que se concentran precisamente en la película superficial de la espuma. La concentración se efectuó por evaporación al baño de María a 40°.

No nos fue posible obtener el residuo seco que describen los autores, ya que estas saponinas son poderosamente higroscópicas.

Procedimiento definitivo para la obtención de saponinas del Agave. Teniendo en cuenta las propiedades fisico-químicas de las saponinas y las experiencias obtenidas en todos los ensayos anteriores, desarrollamos en asocio con el señor Mario Jaramillo el siguiente procedimiento para obtención de saponinas, útil para Agave.

El material debidamente seco y pulverizado se extrae con éter de petróleo en extractor de Soxhlet por 24 horas. El residuo vegetal se libra de éter de petróleo por exposición al aire. El residuo seco se adiciona de cinco veces su peso de alcohol de 70% a la temperatura de ebullición. Se deja enfriar y se macera, agitando de vez en cuando por 24 horas. Se filtra por papel y el filtrado se concentra al baño de María, con o sin ayuda de corriente de aire, hasta consistencia siruposa. Se traslada este líquido a un recipiente adecuado y se le agrega un volumen igual o superior de éter sulfúrico, hasta fin de precipitación. Se deja sedimentar por 24-36 horas y luego se centrifuga (esta separación por centrifugación evita la dispendiosa filtración por papel y la consiguiente pérdida de gran cantidad de saponinas). Se redissuelve el sedimento en metanol y se vuelve a precipitar por adición de éter sulfúrico. Después de sedimentación se centrifuga. Este procedimiento se repite hasta obtener un sedimento límpido. Por desecación sobre cloruro de calcio se obtienen las saponinas amorfas.

Para el presente trabajo se prepararon las saponinas liofilizadas a partir de la solución en metanol. Este procedimiento ofrece la ventaja de poderse disponer continuamente de pequeñas cantidades de saponinas al estado seco y en envases individuales y evita la contaminación con humedad.

Propiedades del producto obtenido. El producto obtenido a partir del Agave es un polvo amorfo ambarino, extremadamente higroscópico, soluble en agua, inodoro, de sabor acre.

Disuelto en solución salina isotónica da prueba de hemólisis positiva en eritrocitos humanos, de conejo y de cordero.

Da prueba positiva de espuma. Decolora con rapidez la solución de permanganato de potasio en medio sulfúrico.

Las siguientes pruebas de coloración para saponinas dan negativas: Reacción con ácido sulfúrico, reacción con ácido sulfúrico y anhídrido acético, reacción de Lafon. Estos resultados son explicable por ser reacciones poco características que requieren confirmación por ensayos biológicos (17).

ENSAYOS FARMACOLOGICOS

Para el estudio del efecto inflamatorio, respuesta a un irritante primario, se presta especialmente la piel humana (18). La substancia a ensayar se disuelve en alcohol etílico, o se prepara con ella un unguen-

to con cera y aceite de olivas, o se aplica disuelta en agua. En este último caso se practican previamente incisiones leves en la epidermis mediante un bisturí (19). La respuesta se mide objetivamente por la extensión y la intensidad del eritema, y subjetivamente por el prurito y/o la sensación dolorosa que produce.

Extracto acuoso de hojas frescas (1:2) y de hojas secas (1:10):

La aplicación de estos extractos, en la forma descrita, sobre zonas de piel del antebrazo en que se han practicado incisiones epidérmicas superficiales, produce una sensación inmediata de escozor, seguida pocos minutos después por eritema, circunscrito a la zona epidérmica preparada. La inflamación persiste por más de 24 horas, y su regresión va acompañada de intenso prurito.

Aplicados los extractos en los pliegues epidérmicos del codo, producen escozor inmediato, seguido poco después de inflamación de características idénticas a las descritas para la epidermis lesionada del antebrazo.

Saponinas aisladas:

La solución de saponinas puras de Agave, equivalente a 1 parte de hoja seca en 5 partes de solución salina, aplicada en epidermis preparada de antebrazo, produce la misma respuesta inflamatoria en la zona de las incisiones. En cambio, aplicada en los pliegues del codo, solamente produce una respuesta inflamatoria muy débil, prácticamente exenta de prurito.

Evidentemente el extracto acuoso de las hojas de Agave contiene una o más sustancias, aparte de las saponinas, que actúan como irritantes ellas mismas o que favorecen la penetración de las saponinas en la piel. Los ensayos se efectuaron en 10 personas, aplicando simultáneamente, como control, agua pura en la zona simétrica del brazo opuesto, preparado o no, tal como la zona de prueba. En todos los casos los resultados coincidieron, aunque su magnitud varía de persona a persona. Entre las 10 personas que se sometieron a las pruebas, se encuentra una que presenta respuestas exageradamente intensas, con inflamación que dura hasta 48 horas, más hacia los extractos totales que hacia las saponinas aisladas.

La respuesta inmediata, que se presenta a la primera aplicación de los extractos, excluye totalmente la existencia de un mecanismo de sensibilización alérgica.

Ensayo en mucosa. Los irritantes primarios producen inflamación cuando son aplicados sobre las mucosas, que se manifiesta por vasodilatación local visible y aumento de secreción.

Se utiliza como modelo generalmente la conjuntiva del ojo del conejo, aplicando el irritante disuelto o suspendido en solución salina isotónica en uno de los ojos, mientras que en el otro ojo se aplica como control solución salina pura (19).

Se ensayaron los siguientes extractos, desarrollados todos en solución salina isotónica, y con los resultados que se anotan:

Extracto	Concentración respecto a hoja seca o a fibra	Magnitud de la respuesta inflamatoria			
Extracto hoja seca	1:10	(+)	(+)	(+)	(+)
Saponinas aisladas	1:10		(+)	(+)	(+)
Extracto fibra "mal lavada" . . .	1:10			(+)	(+)
Extracto fibra "bien lavada" . .	1:10				(+)

Se observa que la fibra "mal lavada" tiene adheridas o adsorbidas sustancias de carácter irritante primario. La fibra "bien lavada" da respuesta ligeramente positiva, aunque en otros ensayos no se han detectado saponinas.

Las saponinas y el extracto total de hojas secas son altamente irritantes para la conjuntiva; producen franca vasodilatación (eritema) y abundante secreción lacrimal; a juzgar por su comportamiento, el animal sufre evidentemente de escozor en el ojo en que se ha instilado extracto total o saponinas.

Administración subcutánea de saponinas. La inyección subcutánea de saponinas en general produce inflamación (20).

Se inyectaron 3 cobayos con 0.5 ml. de solución estéril de saponinas, de concentración equivalente a una parte de hoja seca por 5 partes de solución salina, en la zona subcutánea dorsal lateral depilada, inyectando simultáneamente en la zona subcutánea simétrica la misma cantidad de solución salina.

Al cabo de 2-3 horas se comienza a hacer notoria la turgescencia de la zona en que se han aplicado las saponinas de *Agave*. Al cabo de 5 horas el edema llega al máximo, formando un nódulo subcutáneo que corresponde aproximadamente a una superficie cutánea de 5 cm. La inflamación solamente comienza a ceder visiblemente al cabo de 72 horas o más.

Toxicidad general de las saponinas de Agave en el ratón. Se inyectaron 5 ratones, de peso promedio 25 Gm. por vía intraperitoneal, con saponinas disueltas en solución salina isotónica. La dosis administrada corres-

pondió a 40 Gm. de planta seca (aproximadamente 400 Gm. de planta fresca) por Kg. de peso.

Se pudieron constatar las observaciones de Jones, Furbeck y Colorado (15), hechas por ellos en ratas con saponinas aisladas de *Agave mejicano*; comportamiento que indica irritación en el lugar de inyección; a los 15 minutos incoordinación motora de extremidades, que puede llegar a la parálisis total de estas; convulsiones clónicas; circulación periférica disminuída (hipotermia y palidez de cola, extremidades y orejas); analgesia (respuesta retardada o anulada frente a los estímulos dolorosos); la recuperación se inicia a las 2 horas.

Dada la dosis administrada, la saponinas de *Agave* son relativamente poco tóxicas administradas por vía perenteral.

Acción hemolítica in vivo en el perro. Jones y colaboradores (15) hallaron que las saponinas de *Agave*, administradas oral y subcutáneamente en la rata, disminuyen el recuento de eritrocitos a los 30-45 minutos. El número de eritrocitos por mm. vuelve a aumentar al cabo de 60 minutos, pero no regresa a su valor normal ni aun en 24 horas. Según ensayos en conejo, hay hemólisis in vivo, determinada por examen de orina.

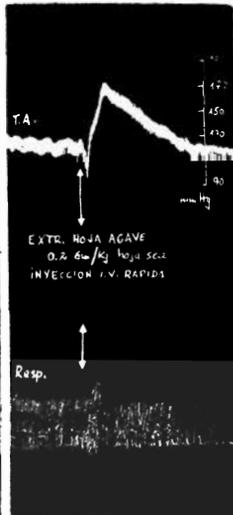
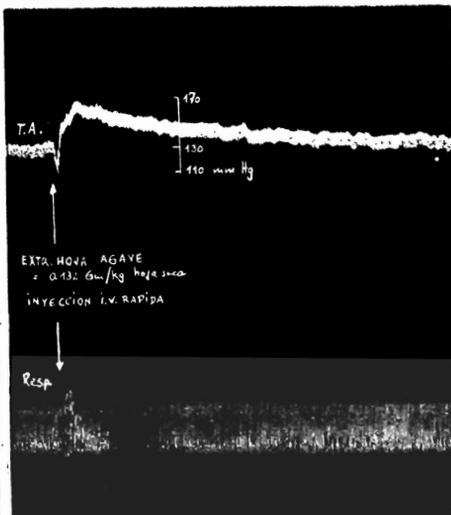
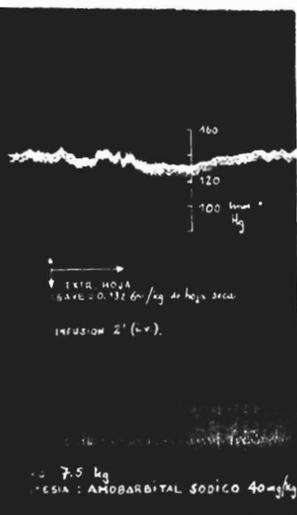
Aprovechando un perro que se estaba utilizando para ensayos hemodinámicos, se inyectó a éste solución isotónica de saponinas en cantidad equivalente a 0.1 Gm./Kg. peso de hoja seca, por vía intravenosa. Las muestras de sangre para recuento de eritrocitos se tomaron de la cánula arterial (carótida).

Recuento previo	6.270.000 eritrocitos/mm.
Recuento a los 30 min. de la administración.	5.210.000 eritrocitos/mm.
Recuento a los 60 min. de la administración.	5.720.000 eritrocitos/mm.

A los 30 minutos de administradas las saponinas hay una disminución aproximadamente del 17% de eritrocitos circulantes, cifra que se ha recuperado en un 88% del valor inicial al cabo de 60 minutos.

No podemos afirmar la existencia de un proceso de hemólisis in vivo, pero sí una considerable disminución del número de hematíes circulantes, debida probablemente a una retención de éstos en tejido retículoendotelial.

Ensayo hemodinámico en perro. Para el estudio del efecto de los extractos de hojas de *Agave* y de las saponinas aisladas sobre tensión arterial y respiración, se emplearon perros, anestesiados por vía endovenosa con amobarbital sódico (40 mg./Kg.). La tensión arterial se registró mediante manómetro de mercurio en cánula arterial (carótida). La respiración se registró mediante tambor de Marey en cánula traqueal.



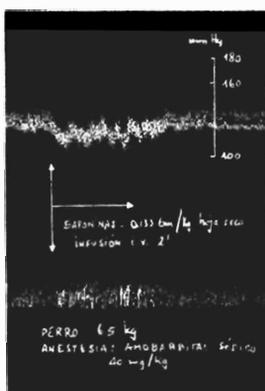
1. —

2. —

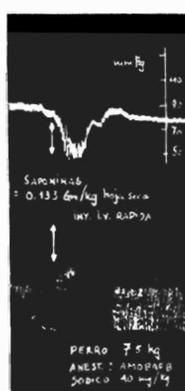
3. —

1. — EXTRACTO DE HOJA SECA. INYECCION i. v. LENTA

2, 3. — EXTRACTO DE HOJA SECA. INYECCION i. v. RAPIDA



4. —



5. —

4. — SAPONINAS. INYECCION i. v. LENTA

5. — SAPONINAS. INYECCION i. v. RAPIDA

La administración de las soluciones se practicó intravenosamente en la safena externa.

El extracto de hojas secas se preparó en solución salina en concentración correspondiente a una parte de hoja seca en 5 partes de solvente. La solución de saponinas se efectuó igualmente en solución salina en igual proporción.

Resultados:

Extracto de hojas secas: la administración intravenosa lenta (2 minutos) de 0.66 ml/Kg. (= 0.132 Gm./Kg. de hoja seca) produce solamente cambios irregulares de poca importancia en la T. A. No hay cambios respiratorios.

La administración intravenosa rápida de la misma dosis produce una baja instantánea inicial de la T. A., que pocos segundos después se ve interrumpida por un ascenso rápido, que al cabo de 15 segundos llega a su máximo. El aumento corresponde a un 25% sobre la T. A. inicial (130 mm. de Hg.). La recuperación del nivel inicial de T. A. se logra en forma lenta y al cabo de unos 15 minutos. Sobre respiración se observa un efecto estimulante, en cuanto a frecuencia y profundidad, durante la fase inicial de descenso de T. A., y un paro respiratorio corto durante la fase de ascenso de la misma.

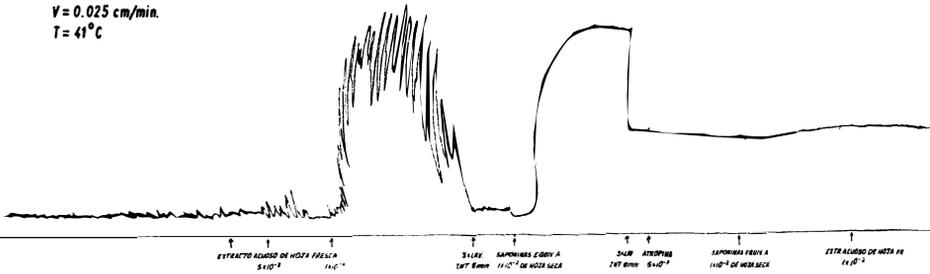
El extracto de hojas secas, en dosis de 1 ml./Kg. (= 0.2 Gm./Kg. de hoja seca) produce los mismos fenómenos, pero más acentuados. Después de la corta baja inicial de T. A. se obtiene un aumento de ésta, que en pocos segundos llega a su máximo y corresponde a un 42% sobre el nivel inicial. En respiración hay marcado estímulo durante el descenso de T. A., y paro transitorio (menos de 10 segundos) durante la de ascenso.

Las saponinas, inyectadas intravenosamente en forma lenta (2 minutos), en dosis equivalente a 0.133 Gm./Kg. de hoja seca, no producen efectos similares a los que produce el extracto de hojas en iguales condiciones.

La misma dosis, administrada rápidamente, ocasiona una baja de T. A., que en 100-120 segundos llega a su máximo, correspondiente a un 66% por debajo del nivel inicial (90 mm. de Hg.). La recuperación se obtiene en un tiempo aproximadamente igual. En respiración se observa un marcado estímulo (de frecuencia y profundidad) durante toda la fase de ascenso.

A juzgar por los registros, el efecto que se observa en respiración, consistente en una estimulación inicial con paro consecutivo, es aparentemente debido a las saponinas, aunque en el caso del extracto de hojas

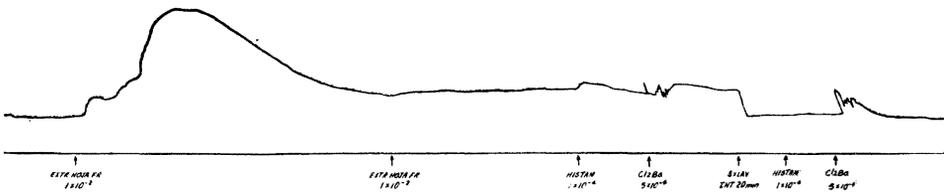
INTESTINO AISLADO DE COBAYO
 $V = 0.025 \text{ cm/min.}$
 $T = 41^\circ\text{C}$



EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS FRESCAS 5×10^{-3} 1×10^{-3}
 SALINE ENT 5min 1×10^{-3} DE HOJAS FRESCAS
 SALINE ENT 5min 5×10^{-3} ATROPINA
 SAPONINAS FREY A 1×10^{-3} DE MEXILACA
 EXTRA ACUOSO DE HOJAS FRE 1×10^{-3}

Fig. 1. —

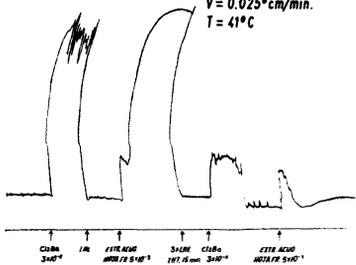
INTESTINO AISLADO DE COBAYO
 $V = 0.025 \text{ cm/min.}$
 $T = 41^\circ\text{C}$



EXTRA ACUOSO DE 1×10^{-3}
 EXTRA ACUOSO DE 1×10^{-3}
 HISTAM 1×10^{-4} CL2Ba 5×10^{-3}
 SALINE ENT 20min 1×10^{-3} HISTAM 1×10^{-4} CL2Ba 5×10^{-3}

Fig. 2. —

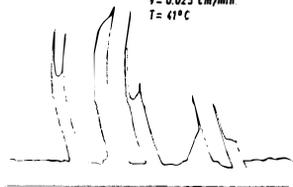
INTESTINO AISLADO DE COBAYO
 $V = 0.025^\circ \text{ cm/min.}$
 $T = 41^\circ\text{C}$



CL2Ba 3×10^{-3} LAV
 EXTRA ACUO HOJAS FRE 5×10^{-3}
 SALINE ENT 5 min 3×10^{-3} EXTRA ACUO HOJAS FRE 5×10^{-3}

Fig. 3. —

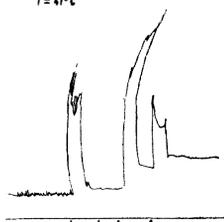
INTESTINO AISLADO DE COBAYO
 $V = 0.025 \text{ cm/min}$
 $T = 41^\circ\text{C}$



CL2Ba 1×10^{-3} EXTRA HOJAS FRE 1×10^{-3} CL2Ba 1×10^{-3} EXTRA HOJAS FRE 1×10^{-3} CL2Ba 1×10^{-3}

Fig. 4. —

INTESTINO AISLADO DE COBAYO
 $V = 0.025 \text{ cm/min.}$
 $T = 41^\circ\text{C}$



CL2Ba 3×10^{-3} EXTRA ACUOSO DE HOJAS FRE 1×10^{-3} CL2Ba 3×10^{-3}

Fig. 5. —

EXTRACTOS DE HOJAS FRESCAS

Nota: La velocidad de registro es de 0.025 cm/seg.

Las concentraciones se dan en Gm/ml. de solución nutritive.

Lav. = Lavado.

la fase depresiva está, sin lugar a duda, contrarrestada. Este efecto antagónico puede ser debido al mismo factor causante del aumento de T. A., ya que se presentan estos dos fenómenos simultáneamente. El extracto de hojas contiene una componente que sobre la T. A. tiene un efecto totalmente diferente del de las saponinas, y que antagoniza e invierte la acción hipotensora de éstas.

El que la recuperación del valor inicial de T. A. haya sido más rápida después de la segunda dosis de extracto, mayor que la primera, puede ser debido a un efecto taquifiláctico.

Ensayos en músculo liso aislado. Para el estudio de las acciones neurotropas y musculotropas de fármacos se presta sobre todo el intestino aislado en la disposición de ensayo según Magnus (21) o de San Martín (22). El método consiste en el registro gráfico de la actividad de un trozo aislado de intestino delgado, mantenido a temperatura constante en un baño de órganos aislados, en solución de Tyrode, glucosada y oxigenada.

Se estudió mediante este método la acción sobre el íleo aislado de cobayo de los siguientes extractos:

Extracto de hoja fresca, desarrollado en solución salina isotónica, en proporción de 1:2.

Extracto de hoja seca en solución salina, en proporción de 1:10.

Solución de saponinas en solución salina, en concentración equivalente a hoja seca 1:5.

Resultados:

Extracto de hojas frescas y extracto de hojas secas:

Agregado este extracto al baño de intestino (íleo) aislado de cobayo, en cantidad superior a una concentración subumbral, produce contracción máxima del músculo. Esta contracción puede ser de tipo netamente espasmódico (figuras números 2, 3, 4, 5 y 6), o espasmo con contracciones rítmicas simultáneas (gráficas números 1 y 7). Con frecuencia el espasmo consta de una fase inicial de respuesta inmediata, relativamente moderada, seguida, después de un período refractario de mayor o menor duración, de una segunda fase de espasmo lento pero completo (figuras números 2, 3, 4, 7, 9 y 10). En otros casos, falta completamente la respuesta inmediata, y el espasmo solo se inicia después de un lapso de tiempo que correspondería al de la duración de la respuesta inicial inmediata (figuras números 5 y 6). El espasmo llega al cabo de unos minutos a su máximo, después de lo cual cede lentamente, pero sin recuperar el músculo su tono inicial; el tono queda definitivamente aumentado (figuras números 2, 7, 9 y 10). Cuando después del espasmo máximo se reemplaza

repetidas veces el líquido nutriente, se logra al cabo de 8-15 minutos la recuperación, que puede ser casi total (figuras números 1, 3, 4 y 6), pero generalmente el tono queda considerablemente aumentado aun después de varios lavados (figura número 5).

La concentración umbral suele estar entre 5×10^{-3} y 1×10^{-2} Gm./ml. de la hoja (figuras números 1 y 10). Si pasado el espasmo máximo se adiciona a la primera dosis, sin lavar, una segunda dosis de extracto igual a la primera, no se obtiene segunda respuesta, pero el tono puede aumentar ligeramente (figura número 2). Después de lavar, una segunda dosis, igual a la primera, puede producir un nuevo espasmo, bien sea menor que el primero o prácticamente insignificante (gráficas números 3, 4 y 10); a veces, aun después de lavar, la segunda dosis no produce reacción alguna (gráfica número 9).

Después de haber estado en contacto con los extractos, el intestino pierde su capacidad de respuesta, aun después de lavar repetidas veces, frente a la histamina (gráficas números 2 y 7) y frente al cloruro de bario (gráficas números 2, 3, 4, 6 y 7); a veces esta pérdida de capacidad de respuesta no es inmediata, sino requiere 10-15 minutos (gráficas números 4 y 7). No hay diferencia en el comportamiento del intestino aislado frente al extracto de hoja fresca o de hoja seca, excepto, tal vez, en que la respuesta inicial inmediata sea mayor en el caso del extracto de hoja seca (gráficas números 9 y 10).

El hipertono que permanece después de una aplicación de extractos luego de lavar, no puede ser contrarrestado por atropina (5×10^{-7} Gm./ml.) ni por epinefrina (5×10^{-7} Gm./ml.) (gráfica número 10).

La atropina en concentración de 1×10^{-5} Gm./ml. no inhibe la respuesta al extracto (gráfica número 5), pero sí la inhibe completamente la concentración 1×10^{-4} Gm./ml.; sin embargo, el tono muscular en este caso también aumenta (gráfica número 8).

Saponinas:

La adición de solución de saponinas de Agave ocasiona en el íleo de cobayo un espasmo de características iguales al que producen los extractos en concentraciones iguales (gráficas números 1 y 11). (La concentración de las saponinas se expresa en Gm./ml. respecto a hoja seca). Posiblemente en los extractos totales participe un factor que favorece las contracciones rítmicas, contracciones estas que no parecen encontrarse en el caso de las saponinas aisladas (gráfica número 1). Las saponinas, al igual que los extractos, aumentan el tono o acortan el músculo, aun después de lavar (gráfica número 1), y este acortamiento no es influenciado por atropina 5×10^{-7} Gm./ml. (gráfica número 1). Una segunda aplicación de saponinas permanece sin respuesta (gráficas números 1 y

INTESTINO AISLADO DE COBAYO
 $V = 0.025$ cm/min. /
 $T = 41^{\circ}$ C

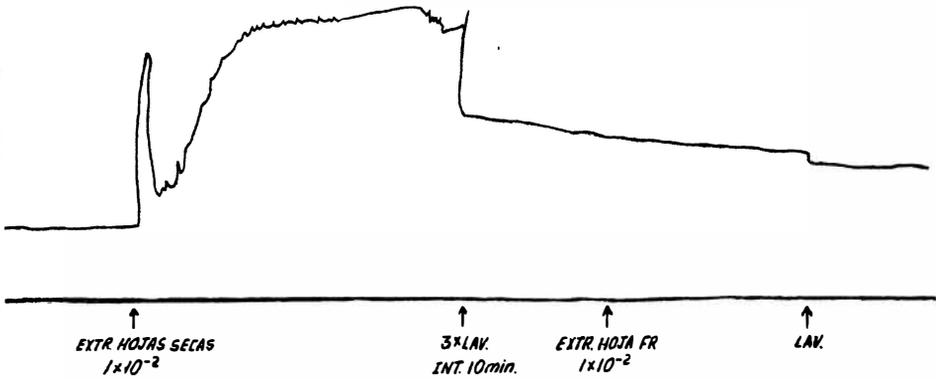


Fig. 9. —

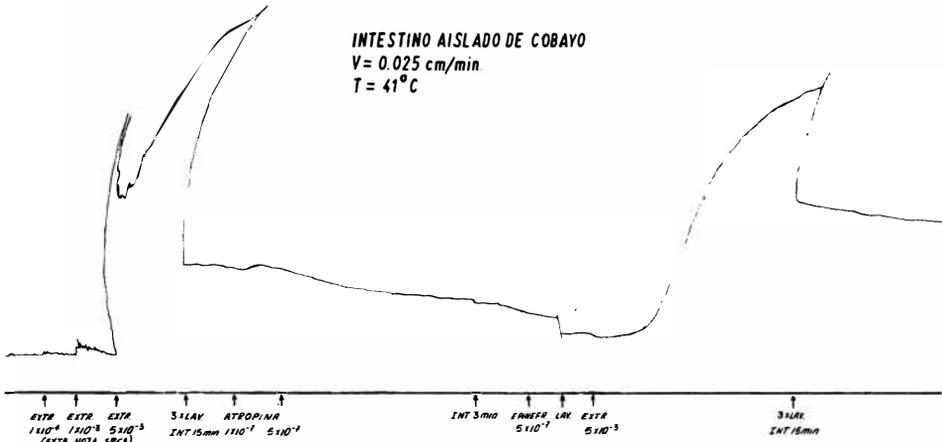


Fig. 10. —

EXTRACTOS DE HOJAS SECAS

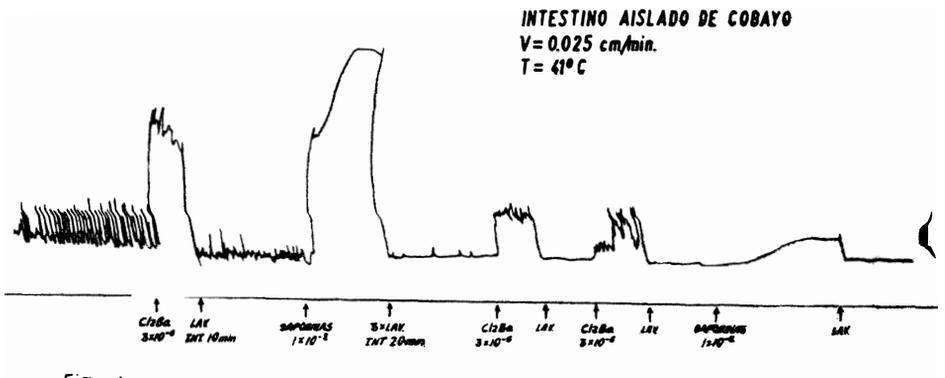


Fig. 11. —

SAPONINAS

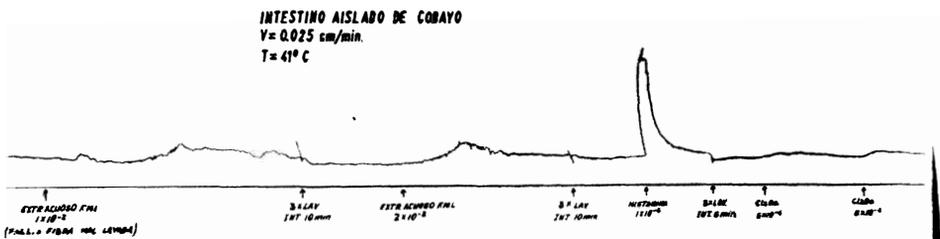


Fig. 12. —

EXTRACTO DE FIBRA MAL LAVADA. (F. M. L.)

11). Igualmente, se pierde la capacidad de respuesta al cloruro de bario (gráfica número 11).

Por el tratamiento con saponinas o con los extractos el íleo sufre al cabo de algunos minutos transformación de la mucosa intestinal, que se manifiesta por desintegración de ésta y aparición de trozos de tejido en el baño. Si se deja en contacto con saponinas o con extractos de hoja por 30 minutos, el órgano queda prácticamente destrozado.

Extracto de fibra "mal lavada":

Como se puede observar en la gráfica número 12, las sustancias solubles que se encuentran adheridas a las fibras de fique "mal lavada", producen un aumento del tono y una actividad de los movimientos rítmicos del íleo de cobayo. En esta clase de fibra habíamos demostrado la presencia de saponinas mediante las pruebas de espuma y de hemólisis, y podemos atribuir a estas saponinas el efecto que se observa en el intestino delgado; es de notar que las cantidades administradas corresponden a las sustancias solubles adheridas en solo 10 mg. de fibra por cada ml. de líquido nutriente.

DISCUSION

Ha sido reportado que la manipulación de la fibra de fique o cabuya puede dar lugar a lesiones cutáneas. Leblond y Vade y Marchand y Cardonier (23) estudiaron la dermatitis que ocasiona esta industria, pero no indican las sustancias ni el mecanismo que la produce. Stott (23) examinó procesos pulmonares surgidos en una factoría de sisal en Kenya, sin llegar a conclusión satisfactoria. Cano-Puerta y Robledo-Clavijo (24) estudiaron el problema de salud ocupacional que se presenta en una factoría de Medellín

Según estos últimos autores, las manifestaciones clínicas que se atribuyen a la manipulación del fique consisten en dermatitis, rino-faringitis y asma, y se presentan principalmente en la manipulación de la fibra mal lavada, procedente del Departamento de Boyacá. Estos fenómenos no se presentan, o solo lo hacen raras veces, en la transformación de la fibra procedente de los Departamentos de Santander, Antioquia y Cundinamarca, mejor lavada.

En una inspección de la factoría "Hilanderías del Fonce", en San Gil (Santander), pudimos constatar que el contacto con fibra mal lavada, procedente de Boyacá, causa lesiones dermatológicas. No nos fue informado ningún caso de afección broncopulmonar, ni tampoco lesiones dermatológicas por fibra bien lavada.

Lo anterior sugiere que la fibra mal lavada lleva adheridas sustancias, no presentes en la fibra bien lavada, responsables de las lesiones dérmicas por contacto directo, y de afecciones del tracto respiratorio por inhalación del polvo que se desprende en aquellas secciones fabriles donde esta fibra se procesa.

Por otra parte, cultivadores de fique nos han informado que los trabajadores que extraen la fibra de la hoja fresca sufren con frecuencia de inflamación cutánea, lo cual confirma la información de Cano-Puerta y Robledo-Clavijo (25).

Portilla (6) informa que el Agave, cuando es utilizado para lavar ropa, produce lesiones cutáneas.

Esto indicaría que las sustancias adheridas en la fibra mal lavada, provenientes de la hoja del fique, constituyen el factor irritante. En nuestros experimentos en piel humana intacta y piel humana lesionada en epidermis, pudimos confirmar la propiedad irritante e inflamatoria de la pulpa del Agave. Este fenómeno queda aún más claramente demostrado por la inflamación que producen los extractos de las hojas en la conjuntiva del ojo de conejo.

Como anotamos en el capítulo "Composición Química del Agave", es bien sabido que éste contiene gran cantidad de saponinas, y en la parte denominada "Propiedades Farmacológicas de las Saponinas", hemos indicado que éstas en general son irritantes para los tejidos.

Hemos demostrado claramente la presencia de saponinas en las hojas verdes del fique, así como también en las hojas secas y en la fibra "mal lavada". La fibra "bien lavada" no contiene cantidades detectables de estos compuestos.

Atribuimos, por lo tanto, las propiedades irritantes de la hoja de fique y de la fibra "mal lavada" a las saponinas que éstas contienen. Aparentemente en la hoja total existe un factor que favorece la penetración de las saponinas en la piel humana intacta, o que de por sí es un irritante adicional. Consideramos que las manifestaciones clínicas que describen Cano-Puerta y Robledo-Clavijo (24) son de carácter netamente inflamatorio, causadas por un agente irritante primario, las saponinas del Agave. La inflamación se manifiesta en la piel por eritema y prurito, y a veces por vesículas. La inflamación fácilmente se hace crónica, y el individuo muestra hipersensibilidad frente al agente causal. Este fenómeno es bien conocido en todos los irritantes primarios; la piel sana constituye un tejido resistente a toda clase de sustancias, pero la piel inflamada es muy sensible y fácilmente irritada por cualquier agente (26). En las mucosas del tracto respiratorio, la inflamación, causada por el contacto con las saponinas inspiradas con el polvo que desprenden las fibras de fique, se manifiesta por vasodilatación, edema y aumento de

secreción mucosa (rinitis, bronquitis, tos) y en algunos casos por broncospasmo (asma), debido este último a acción directa sobre el músculo liso. Estas condiciones patológicas y la natural sensibilización que les siguen no son de carácter anafiláctico.

La acción contracturante directa de las saponinas y del extracto de hojas fue claramente demostrado en el íleo aislado de cobayo no sensibilizado. Cano y Robledo (24) atribuyen esta propiedad a la liberación de histamina por reacción anafiláctica, pero de su trabajo se desprende que aparentemente hicieron el estudio exclusivamente en íleo de animales sensibilizados; como acabamos de mencionar, la reacción se presenta en igual forma en el músculo de animal no sensibilizado, lo que excluye mecanismo anafiláctico. Es posible que el efecto o parte del efecto total se deba a una acción histaminoliberadora de las saponinas, explicable por la acción citotóxica de éstas. Esto explicaría el efecto antagónico que posee la prometazina sobre el espasmo que producen las saponinas, observado por Cano y Robledo, aunque nos inclinamos a creer que esta observación se debió a una sobredosificación de la prometazina:

El pA_2 de la prometazina frente a la histamina es de 9.15, y frente a la acetilcolina es de 7.65 (27). Esto significa que la concentración de prometazina que inhibe la respuesta a la histamina es de 7×10^{-10} milimoles/ml, y la que inhibe la de la acetilcolina es de 2.25×10^{-8} milimoles/ml. Aunque Cano y Robledo no indican la concentración de prometazina en baño empleada, podemos suponer que la dosis de 5 mcg. que dicen haber aplicado había sido diluída en un baño de órganos aislados de una capacidad máxima de 50 ml, lo que equivaldría a una concentración mínima de 3×10^{-7} milimoles/ml. Esta concentración sería más de 10 veces la que inhibe la acción de la acetilcolina, según Gaddum (27). Una concentración tal de prometazina, pues, inhibiría no solamente una respuesta a la histamina (mecanismo anafiláctico), sino también a la acetilcolina (contracción fisiológica y neurotrófica del músculo).

Cano y Robledo aducen otros dos argumentos en pro de un mecanismo anafiláctico en las lesiones por fique: la prueba positiva a la inyección intradérmica de un extracto de fique en el animal sensibilizado; y el broncospasmo que produce un aerosol en el cobayo sensibilizado.

Las saponinas, por su carácter citotóxico, conducen a la formación de pápula cuando se administran por la vía intradérmica (inflamación), y creemos que esta sea la causa de que tal prueba de positiva. Esto se ve soportado por la observación de los mismos autores, de que en el conejo no sensibilizado la inyección intradérmica del extracto conduce,

pA_2 = logaritmo negativo de la concentración molar que inhibe de tal manera la contracción del músculo liso, que requiere la doble cantidad del agente contracturante para producir una contracción igual.

además del efecto tipo histamina inmediato, a una "reacción necrosante tardía", que ellos atribuyen a lo bajo del pH del extracto; consideramos que este proceso se debe a la acción citotóxica de las saponinas, la que está bien patente en el estado de desintegración en que queda el músculo intestinal después de haber estado sometido a la acción de las saponinas.

El broncoespasmo que produce un aerosol de extracto de fique en el cobayo sensibilizado —por vía subcutánea e intraperitoneal— lo atribuimos no a mecanismo anafiláctico, sino a acción contracturante directa sobre el músculo liso. Esta propiedad contracturante se demuestra claramente en el íleo aislado de cobayo no sensibilizado.

Los experimentos sobre el íleo aislado de cobayo indican que el espasmo muscular que producen las saponinas puede suprimirse por atropinización completa; esto sugiere mecanismo reflejo, a través de liberación de acetilcolina. Sin embargo, la atropinización completa no impide el lento acortamiento muscular, por lo cual este debe ser efecto directo sobre la fibra muscular; esta hipótesis se ve apoyada por el acortamiento en que permanece el músculo, como consecuencia de la aplicación de saponinas, aun después de repetido cambio de líquido nutriente y prolongado reposo. La dificultad de hacer recuperar el músculo debe poderse atribuir a la extraordinaria capacidad de absorción de las saponinas.

Después de la aplicación de saponinas el músculo disminuye su respuesta a una nueva dosis de saponinas, e igualmente a la histamina y al cloruro de bario; esto, de acuerdo con Sollmann (28), podemos explicarlo por la pérdida de la irritabilidad muscular.

Inyectadas las saponinas de Agave por vía i. v., ocasionan una disminución del número de eritrocitos circulantes, debido posiblemente a una retención de éstos en tejido retículoendotelial. Sobre la tensión arterial, inyectadas lentamente, no producen cambios considerables, pero sí una notable baja transitoria cuando se inyectan rápidamente. Al tiempo se produce una estimulación respiratoria, seguida de una corta depresión.

El extracto total de hoja seca, en inyección i. v., lenta, se comporta de igual manera que las saponinas aisladas, pero en inyección rápida el efecto predominante sobre T. A., es opuesto. Vale decir, la hoja contiene un factor hipertensor que invierte el efecto de las saponinas. El efecto sobre respiración es comparable al de las saponinas aisladas, pero aparentemente está también parcialmente compensado.

Cano y Robledo soportan la hipótesis de la formación de una sustancia biológicamente activa por fermentación de los extractos. Aparte de la posible disminución moderada de pH de un extracto de fique, por formación de ácidos orgánicos a partir de los azúcares que contiene en

gran cantidad, no creemos en la formación de sustancias activas que pudieren intervenir notoriamente en el desarrollo de la "Agavosis". Por lo menos, esta posibilidad se excluye totalmente en el síndrome que origina el trabajo con la hoja fresca.

SUMARIO Y CONCLUSIONES

1. Se reúnen datos bibliográficos sobre características botánicas, usos medicinales empíricos, utilidad agrícola e industrial y composición química de plantas de los géneros *Agave* y *Fourcrea*, así como propiedades físicas, químicas y farmacológicas de las saponinas como grupo químico.
2. Se demuestra la presencia de saponinas en seis muestras de hoja fresca de fique procedentes de Cundinamarca, en seis muestras de hojas secas procedentes de Santander y Cundinamarca y en dos muestras de fibra "mal lavada" suministradas, una por una factoría de Santander y otra por una factoría de Antioquia. En muestras de fibra "bien lavada" suministradas por las mismas factorías no se encuentran saponinas en cantidades detectables. Para este ensayo cualitativo la prueba más sensible es la de hemólisis, y es útil aunque menos específica y menos sensible, la prueba de espuma.
3. Se ensayan cuatro métodos clásicos para extraer saponinas, aplicados a la hoja de fique. Se propone un procedimiento específico para las saponinas de *Agave* y *Fourcrea*.
4. Se obtiene saponinas purificadas del fique y se estudian sus características físicas y químicas.
5. Las pruebas de coloración ensayadas no son útiles para el caso de las saponinas de *Agave* y *Fourcrea*.
6. Se demuestra el carácter irritante de los extractos totales de hojas frescas y hojas secas, de extractos de fibra "mal lavadas" y de saponinas aisladas, por su acción inflamatoria sobre la piel humana y sobre la conjuntiva del ojo del conejo. El poder irritante de las saponinas aisladas se corrobora por la inflamación que produce la inyección subcutánea de éstas en el cobayo.
7. Los ensayos en piel humana y en conjuntiva del ojo de conejo indican que los extractos de hojas frescas y secas son más irritantes que las saponinas aisladas, aplicadas en proporción equivalente.
8. Los extractos de hojas frescas y secas y las saponinas aisladas del fique producen espasmo prolongado y acortamiento tardío del

músculo liso del íleo de cobayo. El espasmo puede suprimirse por atropinización completa; no así el acortamiento tardío del músculo. Atribuimos el espasmo a un mecanismo de contracción reflejo, y el acortamiento tardío a una acción directa sobre la fibra muscular. La aplicación de extracto de hojas y de saponinas hace perder su irritabilidad al músculo, como demuestra la inhibición de la respuesta a una segunda aplicación de extractos de saponinas, de histamina y de cloruro de bario. En su acción sobre el músculo liso no se diferencian los extractos de las saponinas aisladas, por lo cual atribuimos los efectos a estas últimas.

9. La inyección intravenosa de saponinas de fique ocasiona una disminución del número de eritrocitos circulantes en el perro.
10. La inyección intravenosa lenta de extractos de hojas secas y de saponinas aisladas de fique en el perro anestesiado no produce cambios de importancia en la tensión arterial ni en la respiración. La inyección intravenosa rápida de saponinas aisladas ocasiona una considerable baja de la T. A., que dura algunos minutos. Simultáneamente hay estimulación notoria de la respiración, seguida de un paro transitorio. La inyección intravenosa rápida de extractos de hojas secas produce un descenso inicial en la T. A., que pronto se ve invertido por un considerable ascenso; la recuperación se logra al cabo de pocos minutos. Simultáneamente se observa una estimulación respiratoria que se interrumpe poco después por una corta depresión. El extracto total de hojas contiene un factor que invierte el efecto hipotensor y disminuye notoriamente el efecto sobre respiración que producen las saponinas aisladas.
11. Atribuimos las manifestaciones clínicas de la enfermedad ocupacional denominada por Cano y Robledo "Agavosis", ocasionada por la manipulación del fique, a mecanismo irritante primario. El agente irritante causal son las saponinas contenidas en el polvo que desprende la fibra de mala calidad ("mal lavada"). La dermatitis es la inflamación ocasionada por el contacto con las saponinas, la rinitis y la bronquitis, inflamación de las mucosas por el contacto con las saponinas que contiene el polvo que se desprende de la fibra en las factorías. El asma tiene dos componentes: broncoconstricción refleja por irritación de la mucosa bronquial y bronquiolar, y broncoconstricción por acción directa de las saponinas sobre la musculatura lisa.

La hoja de fique fresca es más irritante que las saponinas aisladas. Parece contener un factor que facilita la acción irritante de las saponinas o que es irritante de por sí solo.

No creemos en la participación de mecanismo anafiláctico en el desarrollo de las manifestaciones clínicas citadas.

12. Para evitar la aparición de lesiones ocupacionales en la industria de elaboración del fique, estamos de acuerdo con otros autores antes citados, en recomendar en primera línea evitar el contacto con el agente irritante primario, mediante el empleo sistemático de guantes, que cubran no solo las manos sino los antebrazos, trajes que protejan los pliegues de los codos, y máscaras filtrantes de aire. Además, recomendamos la instalación, en las edificaciones industriales, de sistemas apropiados de aireación y extracción de polvo, y finalmente, la mejora en la calidad de fibra, principalmente la obtenida en el Departamento de Boyacá, por instrucción del cultivador.
13. Para el tratamiento de las lesiones recomendamos corticoides tópicos en la dermatitis, y corticoides sistémicos y broncodilatadores en el síndrome respiratorio.

B I B L I O G R A F I A

1. MARTÍNEZ, M. "Plantas Medicinales de México". IV Ed., Ediciones Botas. México. 1959.
2. BLOHM, H. "Poisonous Plants of Venezuela". Harvard U. Press, Cambridge, 1962, 18.
3. Die Naturlichen Pflanzenfamilien". Citado por Pérez-Arbeláez, op. cit.
4. PÉREZ-ARBELÁEZ, E. "Plantas Útiles de Colombia". III Ed., Sucesores de Rivadeneyra S. A., Madrid, 1956, 42, 43, 166.
5. BERNAL, I. y MORENO, E. Tesis de Grado, Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1963.
6. PORTILLA, ALFONSO Y A. "Divulgación de Conocimientos Científicos sobre las Plantas más Útiles y Conocidas en Colombia". Editorial Luz S. A., Pasto, 1951. 382-386.
7. MADINAVEITIA, A. y OROZCO, D. F. "Anales Instituto de Biología". México. 11 : 373-383 (1940).
8. MICHAUD and TRISTAN. Amerc. Chem. Journ. 14 : 548.
9. STONE and LOTS. Amerc. Chem. Journ. 17 : 368.
10. GUERRERO, F. "El vino del Magüey" (Tesis), México. 1874.
11. CALDERÓN, E. "Guía para Análisis de Plantas y Notas Prácticas sobre Fitoquímica". Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1963.

12. JOHANSEN, D. A. "Plant Microtechnique". V Ed., Mc. Graw Hill Book Company. New York, 1940. 63.
13. FIEDLER, K. R. and GISVOLD, O. J. Am. Pharm. Assoc. Sci., Ed., 46 : 317 (1957).
14. ROSENTHALER, L. "The Chemical Investigation of Plants". G. Bel. and Sons Ltd., London, 1930. Citado por Calderón E., op. cit.
15. JONES, D., FURBECK, G. N. and COLORADO, R., J. Am. Pharm. Assoc., Sci., Ed., 21 : 787-789 (1932).
16. TREASE, G. E. "Textbook of Pharmacognosy", VII Ed. Bailliere, Tindall and Cox, London, 1957, 614.
17. BRUNEL, A. "Chimie Vegetale". Imprimerie Georges Frere, Tourcoing (Nord), 1949, 263-277.
18. THER, L. "Pharmakilogische Methoden". Wissenschaftt. Verlagsges., Stuttgart, 1949, 122.
19. HEUBNER, W. "Naunyn-Schmiedebergs Arch". 107 : 129 (1925).
20. SOLLMANN, T. "A Manual of Pharmacology", VI Ed., W. B. Saunders Co. Philadelphia, 1943. 556.
21. MAGNUS, R. "Pflugers Arch". 102 : 123 (1904).
22. SAN MARTÍN, R. "Valoraciones Biológicas de Drogas y Medicamentos". M. Marín y Cía., Barcelona. 1953.
23. LEBLOND and VADE; MARCHAND and CARDONIER; STOTT; citados por Cano-Puerta, J. y Robledo-Clavijo, A. op. cit. 406.
24. CANO-PUERTA, J. y ROBLEDO-CLAVIJO, A.; Antioquia Médica. 13 : 405. 448. 1963.
25. CANO-PUERTA, J. y ROBLEDO-CLAVIJO, A. op. cit., 424.
26. LITTER, M. op. cit., 1063.
27. GADDUM, J. H. "Farmacología". Ed. Española, Ed. Reverte, Barcelona, 1955. 448.
28. SOLLMANN, T. op. cit., 557.