

Revisión

EL “MUÉRDAGO CRIOLLO”, *LIGARIA CUNEIFOLIA* (R. ET P.) TIEGH. –LORANTHACEAE– DESDE EL USO POPULAR HACIA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS FARMACOLÓGICOS

Beatriz G. Varela¹, Teresa Fernández², Carlos Taira^{3*}, Paula Cerdá Zolezzi², Rafael A. Ricco¹, Eloisi Caldas López², Élica Álvarez^{2*}, Alberto A. Gurni¹, Silvia Hajos^{2*} y Marcelo L. Wagner^{1,4**}

¹ Cátedra de Farmacobotánica.

² Cátedra de Inmunología. IDEHU.

³ Cátedra de Farmacología.

⁴ Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez”. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Junín 956, (1113) Buenos Aires, República Argentina. Correo electrónico: mlwagner@huemul.ffyb.uba.ar

* Miembro de la Carrera de Investigador, CONICET.

** Autor a quien dirigir la correspondencia.

Resumen

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), “muérdago criollo”, es una planta hemiparásita que presenta una amplia distribución en la República Argentina. Su empleo en la medicina popular como sustituto del muérdago europeo (*Viscum album* L. -Viscaceae-) está basado en su presunta acción sobre la presión arterial.

Los estudios anatómicos muestran que el elemento característico es la presencia de esclereidas cristalíferas en hojas y tallos, la ausencia de otros cristales y la presencia de epidermis cuticular en el tallo. El análisis de los polifenoles mostró que, junto a las leucocianidinas y las proantocianidinas, el único flavonol detectado fue la quercetina libre y glicosilada. La dihidroquercetina puede seguir dos vías metabólicas: una que por la acción de la flavonol sintasa lleva a la producción de quercetina, o la otra, que produce leucoantocianidinas por la acción de una 3-hidroxiflavanona-4-reductasa. La presencia simultánea de ambos tipos de compuestos sirve para caracterizar al muérdago criollo cuando se lo compara con otras Loranthaceae y Viscaceae.

En la mayoría de los ejemplares analizados se detectó la presencia de tiramina, cuya concentración no fue superior a los 10 mg %, pero en los ejemplares que parasitan a *Geoffroea decorticans*, los niveles de tiramina pueden superar los 360 mg %. Los componentes proteicos de los extractos analizados por electroforesis presentan un patrón de distribución diferente del muérdago europeo, pero las proteínas presentan epitopes comunes con las proteínas del *V. album*.

Palabras clave: muérdago criollo - *Ligaria cuneifolia* - anatomía - flavonoides - efectos cardiovasculares - acción citostática - acción inmunomoduladora.

Key words: Argentine mistletoe - *Ligaria cuneifolia* - anatomy - flavonoids - cardiovascular effects - cytostatic activity- immunomodulatory actions.

Los estudios realizados sobre el muérdago criollo en modelos animales han permitido establecer los efectos biológicos sobre el sistema cardiovascular y la acción citostática e inmunomoduladora. Las infusiones producen, de acuerdo con el hospedante, un efecto presor acompañado, o no, de vasodilatación y un efecto cardíaco variable. Los extractos acuosos de *L. cuneifolia* fueron capaces de producir inhibición del crecimiento de células linfoides activadas a través de un mecanismo apoptótico. Además, estos extractos pueden modular la actividad de las células macrofágicas por medio de la inducción de la producción de óxido nítrico. La lectina galactósido-específica presente en ese extracto produce la inhibición de la proliferación de las células tumorales LB.

La revisión realizada sobre *L. cuneifolia* contribuye a profundizar el conocimiento de esta especie de la flora argentina, empleada por sus efectos beneficiosos en medicina popular.

THE ARGENTINE MISTLETOE, *LIGARIA CUNEIFOLIA* (R. ET P.) TIEGH. –LORANTHACEAE– FROM FOLK MEDICINE TO THE STUDY OF PHARMACOLOGICAL EFFECTS

Summary

The “Argentine mistletoe”, *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), is a widespread hemiparasitic plant in the Argentine Republic. It is employed in folk medicine as a substitute of the “European mistletoe”, *Viscum album* L. (Viscaceae), because of its supposed action on decreasing high blood pressure.

The anatomical studies on the “Argentine mistletoe” showed branched, crystalliferous stone cells as the main feature for this species, besides no other crystals were detected and the stem lacks cork.

The study on polyphenols characterized the free or glycosilated quercetin as the only flavonol, together with leucocyanins and proanthocyanidins. Dihydroquercetin may follow two different metabolic pathways: one leading to quercetin by action of a flavonol-synthase, or another one which produces leucoanthocyanidins by a 3-hydroxyflavanone-4-reductase. The joint of both types of compounds is characteristic for the “Argentine mistletoe” when compared to another Loranthaceae and Viscaceae.

Proteins from extracts analyzed by electrophoresis showed a different pattern of distribution if compared to the “European mistletoe”, but some of them have common epitopes.

Surveys on the “Argentine mistletoe” on animal models showed effects on the cardiovascular system and cytostatic and immunomodulatory actions.

Infusions can produce, according to the host plant, increase of blood pressure, either with vasodilatation or not, and a variable cardiac effect. Aqueous extracts from *L. cuneifolia* were able to inhibit activated lymphoid cell growth, through an apoptotic mechanism.

These same extracts were able to modulate the activity of macrophage cells by inducing the production of nitric oxide. A specific-galactosid lectin present in this extract inhibits the proliferation of tumor cells LB.

This review on *Ligaria cuneifolia* is a contribution to a better knowledge of this species, used in folk medicine because of its beneficent effects.

Introducción

La medicina popular se desarrolla en las diferentes culturas como consecuencia de la interacción del hombre con la naturaleza que lo rodea. Inicialmente surge como un conocimiento empírico que se va profundizando al avanzar el conocimiento científico de los principios activos, presentes en las preparaciones utilizadas en la medicina popular. Por esa razón, en la actualidad existe un interés internacional para sistematizar la información y el uso de las plantas medicinales de cada región a partir de datos etnobotánicos y de trabajos de validación científica.

Durante miles de años se utilizó en Europa el muérdago (*Viscum album* L. -Viscaceae-) en preparaciones para el tratamiento de la epilepsia, la infertilidad y la debilidad, pero los usos farmacológicos más reconocidos son sus efectos sobre el sistema cardiovascular (Benigni y col., 1964; Wagner y col., 1986) y la presión arterial (Youngken, 1951; Font Quer, 1962; Paris y col., 1981).

En las últimas décadas se ha incrementado el interés por la presencia de constituyentes macromoleculares con acción citotóxica sobre las células tumorales; uno de los constituyentes más estudiado es una glucoproteína, la lectina MLI, que tiene un efecto inhibitorio sobre la síntesis ribosomal de proteínas en las células eucarióticas (Ferraras y col., 1995). También en Asia, los muérdagos han sido reconocidos desde la antigüedad como hierbas terapéuticas, según el compilado de Shen-Nong Ben Cao Jing (Zee Cheng, 1997).

En la Argentina, principalmente en las provincias del interior, como en el resto del mundo, la palabra "muérdago" es aplicada a las plantas que tienen un comportamiento similar al de *V. album*, y cierto grado de relación taxonómica. Son plantas hemiparásitas que se desarrollan sobre vástagos leñosos, es decir que dependen del hospedante para vivir, de donde obtienen el agua y los nutrientes minerales; son organismos fotosintetizadores ya que producen sus propios carbohidratos. Por su condición de hemiparásitas, en general están desprovistas de raíces; al germinar la semilla da lugar a un disco de adhesión en el hipocótilo que le permite aferrarse a la superficie de las ramas y de los tallos del hospedante. Luego generan un cono de penetración que crece entre los tejidos hasta llegar al xilema por donde circulan el agua y las sales (Abbiatti, 1946; Becker, 1986; Luther y col., 1987).

De acuerdo con el trabajo realizado por Abbiatti (1946), existen 23 especies diferentes de muérdagos que crecen en varias regiones fitogeográficas del

país, con excepción de la estepa pampeana y los desiertos patagónico y andino. La región fitogeográfica más poblada es la denominada “Formación del Monte”, donde abundan las leguminosas arbóreas, las plantas que los muérdagos infectan preferentemente.

Tabla 1.- Muérdagos que crecen en la República Argentina (Abbiatti, D., 1946; Subils, R., 1984 y Wagner, M.L., 1993)

Loranthaceae D. Don	<i>Tripodanthus</i> (Eichl.) Tiegh. [= <i>Phrygillanthus</i> Eichl.]	<i>T. acutifolius</i> (R. et P.) Tiegh. <i>T. flagellaris</i> (Cham. et Schlecht.) Tiegh.
	<i>Struthanthus</i> Mart.	<i>S. acuminatus</i> (R. et P.) Blume <i>S. angustifolius</i> (Griseb.) Haum. <i>S. ilanensis</i> Ruiz Leal <i>S. uraguensis</i> (Hook. et Arn.) G. Don.
	<i>Ligaria</i> Tiegh.	<i>L. cuneifolia</i> (R. et P.) Tiegh.
	<i>Tristerix</i> Mart.	<i>T. corymbosus</i> (L.) Kuijt <i>T. verticillatus</i> (R. et P.) Barlow et Wiens
	<i>Psittacanthus</i> Mart.	<i>P. cordatus</i> (Hoffmans.) Blume
Eremolepidaceae Tiegh.	<i>Eubrachion</i> Hook. f.	<i>E. ambiguum</i> (H. et A.) Engler [= <i>E. andalgalense</i> Abbiatti]
		<i>P. acinacifolium</i> Mart. <i>P. balansae</i> Trel. <i>P. burkartii</i> Rizzini et Ulibarri <i>P. dipterum</i> Eichl. <i>P. falcifrons</i> (Hook. et Arn.) Eichl. <i>P. hieronymi</i> Trel. <i>P. liga</i> (Gill.) Eichl. <i>P. mucronatum</i> (D.C.) Krug et Urb. [= <i>P. argentinum</i> Urb.] <i>P. perrottetii</i> (D.C.) Nutt. <i>P. piperoides</i> (H.B.K.) Nutt. <i>P. pruinatum</i> Urb. <i>P. quadrangulare</i> (Kunth) Griseb. <i>P. salicifolium</i> (Presl.) Eichl. <i>P. subfalcatum</i> Abbiatti

Desde el punto de vista taxonómico, los muérdagos se distribuyen en las tres familias en que ha sido dividida Lorantheaceae (*lato sensu*): Lorantheaceae D. Don. (*stricto sensu*), Eremolepidaceae Tiegh. y Viscaceae Miq. (Barlow, 1964; Kuijt, 1988a y 1988b; Subils, 1984; Barlow y col., 1989).

El uso que la población realiza de los muérdagos es muy variado; depende de la especie, de la etnia y de la región geográfica. En las provincias de Salta y de Catamarca se emplean las ramas florecidas de *Tripodanthus acutifolius* en la festividad de Corpus Christi, en junio, época de su máxima floración, cuando sus flores, se destacan por su color blanco y su fragancia características (Abbiatti, 1946).

Asimismo, de las bayas de *Tristerix corymbosus* y de *Ligaria cuneifolia* se extrae una sustancia viscosa, denominada viscina o liga, que se utiliza para cazar pájaros e insectos (Abbiatti, 1946; Diem, 1950). En la región chaqueña, los tobos utilizan *Phoradendron liga*, *P. hieronymi* y *Tripodanthus flagellaris* para elaborar amuletos y elementos de magia (Martínez Crovetto, 1964).

Desde la etnofarmacología, se verifica que *Phoradendron pruinosum* y *P. liga* son las especies que los pobladores del noreste de la Argentina utilizan para las afecciones cardíacas y, *P. hieronymi*, para el tratamiento del asma (Martínez Crovetto, 1981; Toursarkissian, 1980; Wagner y col., 1986). Por otra parte, los aborígenes y los criollos del Chaco utilizan *P. liga* para sedar a los caballos (Arenas, 1982).

En la Argentina el muérdago criollo, *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia*, es la especie que más se emplea como sustituto del muérdago europeo, aunque se ubica, botánicamente, en una familia diferente. Los inmigrantes europeos y sus descendientes encontraron que esta especie poseía un hábitat y tenía una morfología similar a la del *V. album*; por esa razón, la tomaron como su sustituto natural (Nájera, 1983; Wagner, 1993). Así, comenzaron a utilizar infusiones de hojas y tallos -ocasionalmente acompañadas por flores- como agentes terapéuticos para disminuir la presión arterial (Domínguez, 1928; Ratera y col., 1980).

Muérdago Criollo

Ligaria cuneifolia (R. et P.) Tiegh. var. *cuneifolia* [= *Psittacanthus cuneifolius* (R. et P.) Blume]

Entre los pobladores de la Argentina se la conoce con los nombres de "liga", "liguilla" o "muérdago criollo".

Distribución geográfica

Es una especie sudamericana que se encuentra en Perú, Bolivia, Argentina, Chile, Brasil y Uruguay. En la Argentina presenta una gran dispersión; se extiende desde Salta y Jujuy en el Norte hasta La Pampa en el Sur, y desde Entre Ríos

y al noreste de Buenos Aires hasta la precordillera andina (Figura 1).

Hospedantes

L. cuneifolia se desarrolla con preferencia en Leguminosas arborescentes (*Geoffroea*, *Anadenanthera*, *Prosopis* y *Acacia*); además, parasita especies de *Celtis*, *Schinus*, *Bulnesia*, *Schinopsis* y *Ephedra*. Crece sobre plantas cultivadas como *Malus domestica* (manzano), *P. communis* (peral), *Prunus* spp. y *Robinia* spp.

Caracteres morfológicos

L. cuneifolia var. *cuneifolia* es una planta arbustiva, glabra y desprovista de raíces aéreas. Las ramas son rugoso-estriadas, subcomprimidas cuando son jóvenes, y gruesas y cilíndricas, cuando son adultas.

Las hojas se disponen en forma alterna, pueden ser subsésiles, lineares, oblongas, lanceoladas o linear-espatuladas; miden entre 15 y 65 mm de largo por 4 a 15 mm de ancho; son carnosas, de superficie rugosa y sus nervaduras no son visibles.

Las flores se disponen en racimos uniflorales; presentan escamas basales (profilos) de forma aovada, de 1 mm de largo; la cúpula subfloral es ciatiforme, triangular y tridentada. Las flores son hexámeras y su pigmentación varía desde el color rojo, en los ejemplares que crecen en la región central y occidental del país, hasta color naranja, en los individuos que se desarrollan en la parte oriental (Figura 2).

Los tépalos son linear-espatulados y pueden soldarse en un tubo en su mitad inferior. Los estambres se disponen alternados, son desiguales e insertos a

Figura 1.- Distribución geográfica de *Ligaria cuneifolia* en la República Argentina

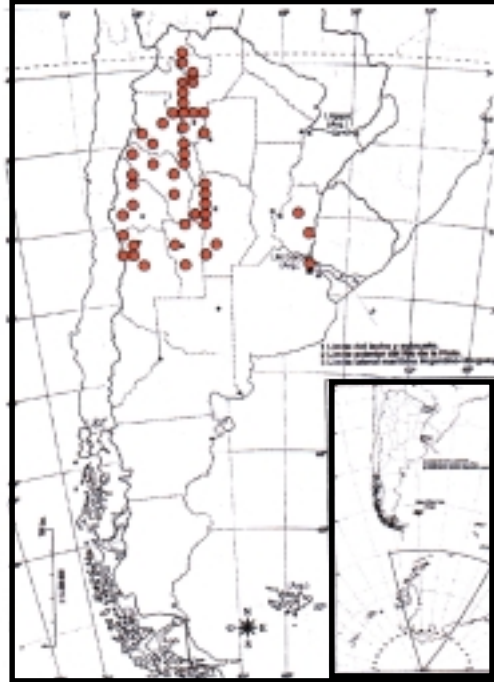


Figura 2.- Flor de *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia*



los tépalos hasta la mitad de su longitud; la región basal de los estambres queda libre formando una lígula. Las anteras son versátiles, oblongas y apiculadas. El estilo es filiforme y el estigma es capitado. La floración se produce en la primavera y se prolonga hasta el otoño.

El fruto es una baya globosa, negruzca y está coronada por el cálculo tubuloso. Las semillas son endospermas y germinan a principios de noviembre (Abbiatti, 1946; Subils, 1984; Wagner, 1993).

En el centro y oeste de Entre Ríos y en la costa occidental de la República del Uruguay se desarrolla *L. cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. var. *flava* Abbiatti que se caracteriza por presentar flores de color amarillo (Abbiatti, 1949) (Figura 3).

Figura 3.- Flor de *Ligaria cuneifolia* var. *flava*



Anatomía

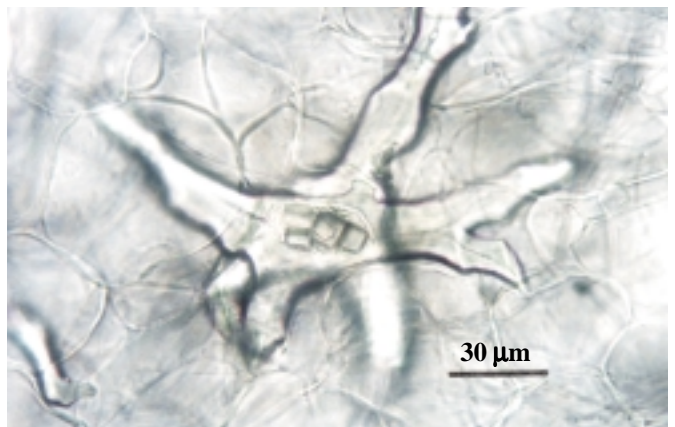
Anatomía foliar

Epidermis. Las células epidérmicas son cuadrangulares, con paredes gruesas. Están cubiertas por una cutícula medianamente gruesa. Los estomas son de tipo paracítico y abundan en la epidermis inferior. La epidermis superior presenta escasos estomas (Varela y col., 1995; Wagner, y col. 1998).

Mesófilo. El clorénquima es de tipo isobilateral, constituido por dos capas de células alargadas radialmente lindando con ambas epidermis; el centro del mesófilo está ocupado por células más cortas. En esta región se observan en forma dispersa esclereidas irregulares, ramificadas, con cristales cúbicos de oxalato de calcio (Figura 4).

El tejido conductor está constituido por un haz vascular central grande y varios haces menores a cada lado. Los ha-

Figura 4.- Esclereida irregular con cristales cúbicos de oxalato de calcio (400X)



ces están acompañados por arcos de células con paredes engrosadas, de naturaleza celulósica. Las venas terminan frecuentemente en traqueidas muy dilatadas (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998).

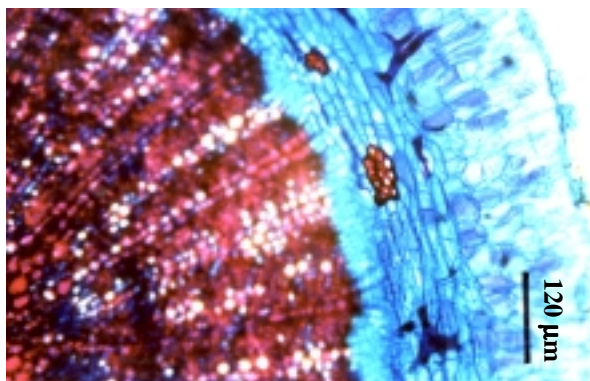
Anatomía caulinar

Epidermis. Está constituida por células cuadrangulares, cubiertas por una gruesa cutícula papilosa amarilla. Se observa cantidad regular de estomas paracíticos (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998) (Figura 5).

Corteza. El parénquima cortical es heterogéneo; está constituido por 3 ó 4 capas de células clorenquimáticas alargadas radialmente y por varias capas de células más internas, alargadas tangencialmente.

En la primera región se observan esclereidas irregulares, ramificadas, con cristales cúbicos de oxalato de calcio. En la segunda región se observan grupos

Figura 5.- Transcorte de tallo de *L. cuneifolia* (100X)



de fibras esclerenquimáticas de estrecho lumen y gruesas paredes (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998).

Cilindro central. Está formado por haces vasculares colaterales abiertos. El xilema forma un cilindro casi continuo; presenta abundante cantidad de fibras lignificadas de pared engrosada formando grupos variables por haz. Los miembros de vaso son de tipo punteado,

reticulado y anillado. Los radios medulares están formados por 2-5 hileras de células parenquimáticas alargadas radialmente. Aparece una región perimedular diferenciada formada por células redondeadas con puntuaciones simples y gruesas paredes esclerosadas. El parénquima medular presenta células redondeadas grandes de paredes celulósicas y algunas esclereidas irregulares, cristalíferas, de pared gruesa (Varela y col., 1995; Wagner y col., 1998).

Características fitoquímicas

Compuestos micromoleculares

Flavonoides

El estudio de los flavonoides de los ejemplares analizados, independientemente del hospedante y del lugar geográfico, revelan la presencia de quercetina como

el único flavonol (Graziano y col., 1967; Wagner, 1993; Wagner y col., 1998).

La quercetina se presenta libre y monoglicosidada con xilosa, ramosa y arabinosa en el hidroxilo de la posición 3 del esqueleto del flavonol (Wagner, 1993; Wagner y col., 1998; Fernández y col., 1998).

Además, se detectaron leucoantocianidinas, catequina-4-β-ol y proantocianidinas en distinto grado de polimerización: polímeros, oligómeros y dímeros, que, por tratamiento ácido, producen cianidina (Wagner, 1993; Wagner y col., 1998; Fernández y col., 1998) (Figura 6).

En *L. cuneifolia* la biosíntesis de estos compuestos puede seguir dos caminos. En un camino, la dihidroquercetina es oxidada por la enzima flavonol sintasa y genera quercetina; parte de este compuesto se acumula, pero gran parte sufre glicosidaciones en el OH del carbono 3 por la enzima UDP-azúcar:flavonoide 3-O-glicosil transferasa. En el otro camino, el grupo ceto de la dihidroquercetina es reducido por acción de la enzima 3-hidroxi-flavonona-4-reductasa NADPH dependiente y origina leucocianidina. Este compuesto puede ser transformado en flavan-3-oles [(+) catequina o (-) epicatequina] por la 3,4-cis-diol-reductasa. Ambos, la leucocianidina y los flavan-3-oles pueden ser condensados y originar dímeros, oligómeros y polímeros por la actividad del complejo enzimático proantocianidina sintasa (Stafford, 1990; 1991).

La vía biosintética de los flavonoides en *L. cuneifolia* es menos compleja si se compara con la de *V. album*, porque este presenta una diversificación en la biosíntesis, debido a la acción de la S-adenosil-L-metionina-X-O-metilasa (SAM) que genera flavonoides metilados (Becker y col., 1978; Becker y col., 1980), compuestos no detectados en el muérdago criollo (Figura 7).

Figura 6.- Fórmula de los flavonoides aislados de *L. cuneifolia*

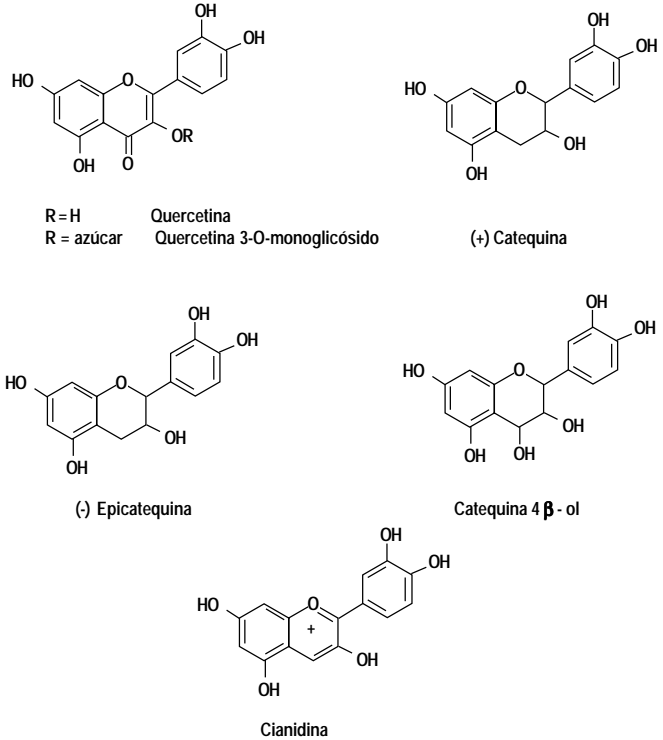
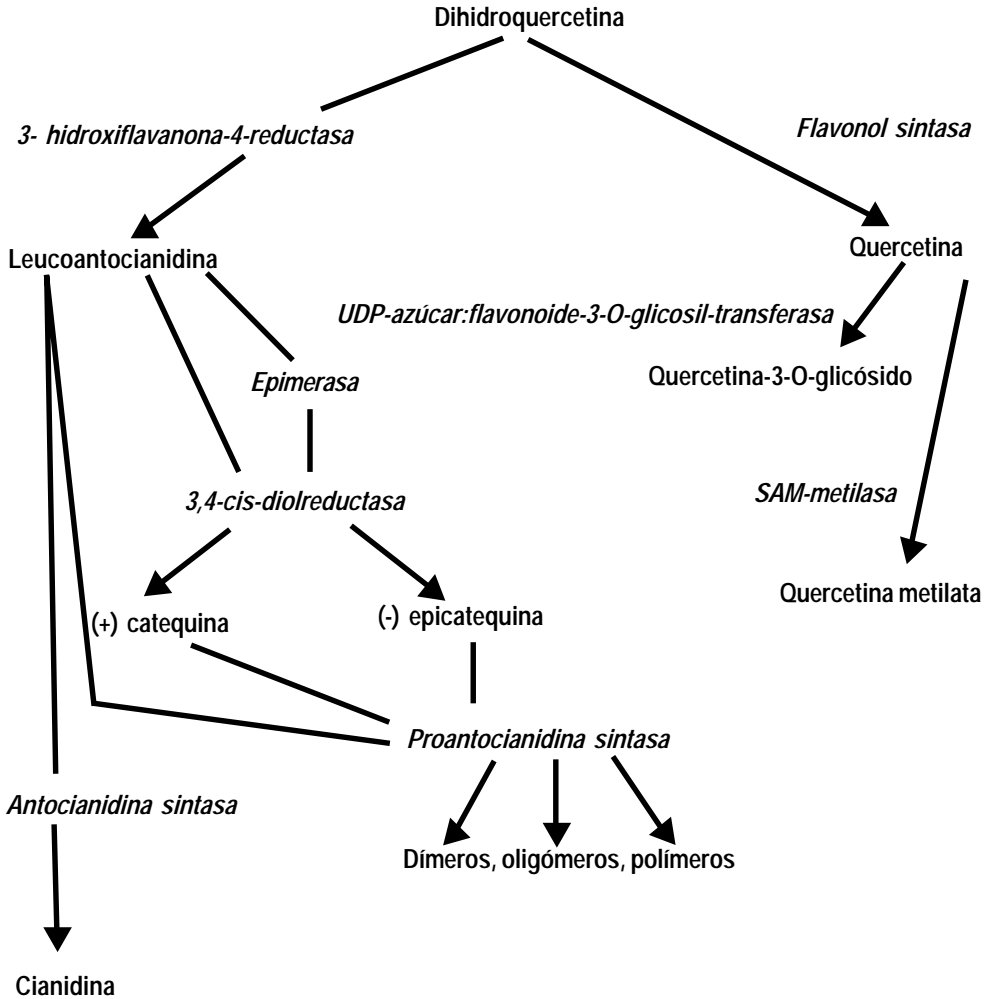


Figura 7.- Probables vías metabólicas de la síntesis de flavonoides en *L. cuneifolia* y *V. album*



Compuestos aminados

Los estudios realizados en ejemplares que se desarrollaban sobre diferentes hospedantes, y recogidos en distintas áreas geográficas, demostraron la presencia de tiramina (Vázquez y Novo y col., 1989).

La concentración detectada en la mayoría de los ejemplares no sobrepasaba los 10 mg %, si bien se detectaron ejemplares con niveles superiores de 100 mg %. En los individuos que parasitan *Geoffroea decorticans* (H. et Arn.) Burkart (Fabaceae), se detectaron los niveles más altos, con valores que van de 120 a 360 mg de tiramina por 100 g de material vegetal seco.

Compuestos macromoleculares

La caracterización de los componentes macromoleculares de *L. cuneifolia* mostró un perfil proteico característico que permite diferenciarlo de *V. album*. El análisis electroforético presentó componentes de PM entre 14 y 90 kD (Figura 8). El análisis de extractos de *L. cuneifolia* y de *V. album*, tanto por Ouchterlony como por Western blot, utilizando suero de ratones inmunizados con muérdago criollo, probó la presencia de epitopes relacionados entre ambas especies (Wagner y col., 1998).

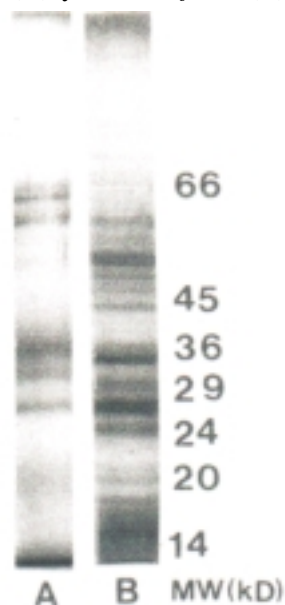
Propiedades biológicas y farmacológicas

Acción vasopresora

La infusión de *L. cuneifolia* se utiliza en medicina popular por una supuesta acción antihipertensiva. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran un efecto presor, que puede estar acompañado de vasodilatación y de un variado efecto cardíaco. Esta diversidad de efectos puede estar relacionada con los hospedantes sobre los cuales se recolectaron los diferentes ejemplares (Domínguez, 1928; Izquierdo y col., 1955).

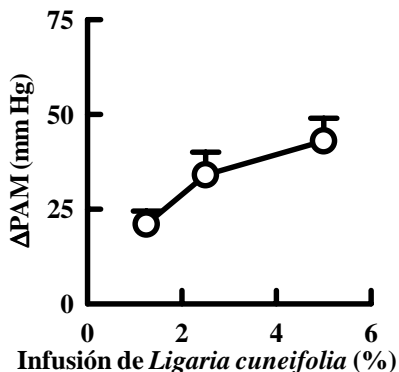
Las infusiones obtenidas a partir de ejemplares de *L. cuneifolia* recolectados sobre *Schinus polygamus* (Cav.) Cabr. (Anacardiaceae), producen un incremento de la presión sanguínea arterial que indican la presencia de un agente vasoactivo presor. También se observa una fase hipotensora secundaria y la caída de la frecuencia cardíaca (Figura 9) (Taira y col., 1994).

Figura 8.- Perfiles de SDS-PAGE de *V. album* (A) y *L. cuneifolia* (B)



Los números indican la posición de los pesos moleculares.

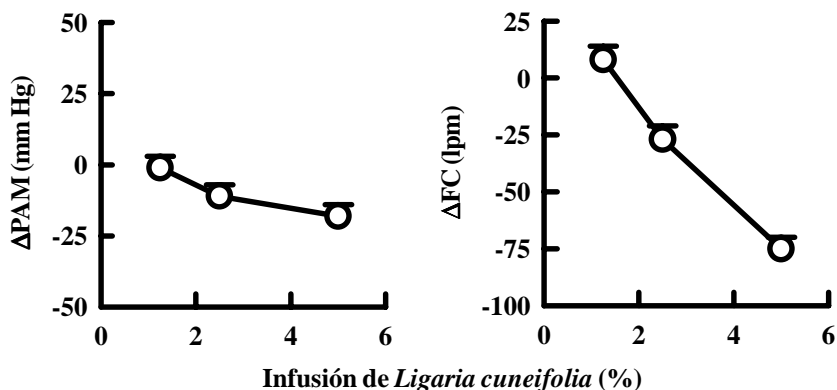
Figura 9.- Efecto presor de *L. cuneifolia* recolectada sobre *Schinus polygamus*



Curva de dosis-efecto presor de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25-5 %). El incremento de la presión arterial media (PAM) es dosis-dependiente.

Cada punto representa la media \pm EEM de cinco animales.

Figura 10.- Efecto cardiovascular de *L. cuneifolia*, recolectada sobre *Schinus polygamus*, en ratas con bloqueo adrenérgico α



La curva de dosis-efecto (A) y el efecto cardíaco (B) de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25 % - 5 %) en ratas pretratadas con fenoxibenzamina (1,5 mg/kg, iv).

Cada punto representa la media \pm EEM de cinco animales.

La administración de estas infusiones a ratas con bloqueo α adrenérgico inducen una caída de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca, pero no se observa el incremento de presión sanguínea arterial. Estos resultados indicarían que el efecto presor es de naturaleza adrenérgica α (Figura 10) (Lefkowitz y col., 1991).

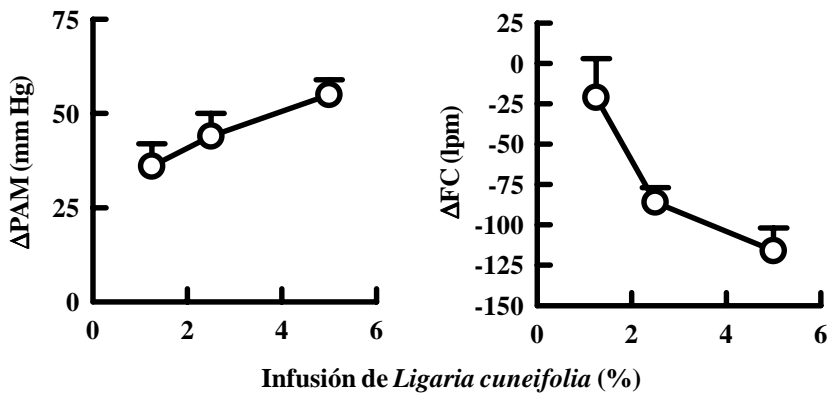
Cuando se realiza un pretratamiento con atropina, antagonista muscarínico, se bloquea la hipotensión y la bradicardia. Este pretratamiento, sugiere la presencia de una sustancia de naturaleza colinérgica muscarínica en las infusiones (Lefkowitz y col., 1991).

Los estudios realizados con ejemplares de *L. cuneifolia* recolectados sobre diferentes hospedantes y en distintos puntos de la Argentina demostraron la presencia de tiramina, una amina simpaticomimética de acción indirecta (Vázquez y Novo y col., 1989). Por lo tanto, existe la posibilidad de que el efecto presor observado esté mediado por una amina de acción indirecta. Para confirmar esta hipótesis se depletan las vesículas noradrenérgicas con reserpina, para evitar que actúen las aminas de acción indirecta. A las 48 horas de la reserpinización se administran las infusiones de *L. cuneifolia* recolectada sobre *S. polygamus* y se observa un efecto presor. Este efecto indica que la acción del agente vasoactivo no sería de acción indirecta, sino de acción directa sobre los receptores adrenérgicos (Taira y col., 1994).

Por lo expuesto, se sugiere que en los ejemplares de *L. cuneifolia* recolectados sobre *S. polygamus* habría un agente vasoactivo de tipo presor adrenérgico de acción directa, un agente hipotensor colinérgico muscarínico y, además, un agente bradicardizante muscarínico (Taira y col., 1994).

En las infusiones preparadas con ejemplares de *L. cuneifolia*, recolectados sobre *Acacia caven* (Mol.) Molina (Mimosaceae) también se observó un efecto presor y bradicardia. El efecto presor se previno con el bloqueo adrenérgico α que confirmó la naturaleza simpaticomimética de la acción, pero no se observó un cambio de frecuencia cardíaca. El efecto del bloqueo podría sugerir que la bradicardia observada originalmente fuera un efecto adrenérgico α . Sin embargo, es más probable que la bradicardia sea una respuesta compensadora barorrefleja al aumento de la presión sanguínea, dada la magnitud del efecto presor (Figura 11) (Lefkowitz y col., 1991).

Figura 11.- Efecto cardiovascular de *L. cuneifolia*, recolectada sobre *Acacia caven*

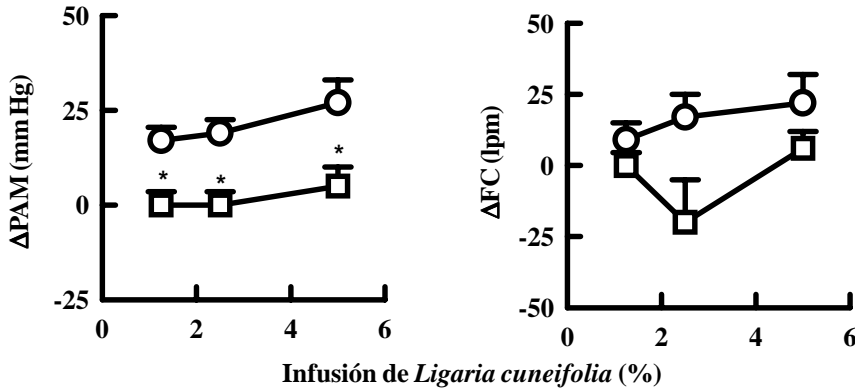


Curvas de dosis-efecto presor (A) y del efecto cardíaco (B) de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25 % - 5 %). Cada punto representa la media \pm EEM de cinco animales.

Por otra parte, las infusiones de *L. cuneifolia* recolectada sobre *Geoffroea decorticans* (Gill. ex Hook. et Arn.) Burkart tendrían solo acción presora y de menor magnitud si se la compara con los otras muestras estudiadas. Como en los otros casos, la naturaleza del efecto presor es adrenérgico α , ya que el antagonista fentolamina previene esa acción (Figura 12) (Lefkowitz y col., 1991).

El análisis de estos resultados muestran que la administración intravenosa de los extractos de *L. cuneifolia* inducen principalmente un incremento de la presión arterial más que su descenso, hecho que restaría justificación para su uso como antihipertensivo. El efecto hipotensor sería secundario, y no la acción principal. En cuanto a la acción cardíaca, es más variable y participarían componentes colinérgicos y un componente barorreflejo. De acuerdo con estos datos, la diferencia de la acción entre las distintas muestras de *L. cuneifolia* estaría relacionada con los hospedantes (Figura 13).

Figura 12.-



Curva de dosis-efecto (A) y el efecto cardíaco (B) de las infusiones de *L. cuneifolia* (1,25 % - 5 %) en ratas no tratadas (círculos) y en ratas pretratadas con fentolamina (1,5 mg/kg, iv, cuadrados). Cada punto representa la media ± EEM de cuatro animales.

* p < 0.05.

Acción citostática e inmunomoduladora

Los extractos del muérdago europeo han sido muy populares en Europa, durante las últimas décadas, como agentes coadyuvantes en el tratamiento del cáncer (Bloskma y col., 1982; Hajto, 1986; Jurin y col., 1993). Los componentes activos contra el tumor han sido identificados como lectinas, viscotoxinas, proteínas, péptidos, oligosacáridos, alcaloides, compuestos polifenólicos y flavonoides (Beuth y col., 1996; Büssing y col., 1996; Gabius y col., 1992; Zee Cheng, 1997).

Figura 13.- Comparación entre el efecto presor de *L. cuneifolia* recolectada sobre *Acacia caven* y sobre *Geoffroea decorticans*

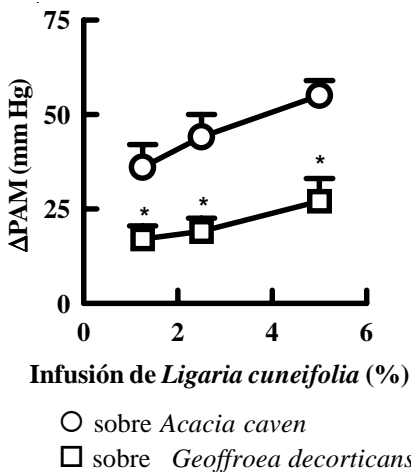


Figura 14.- Efecto de distintas dosis de extracto de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de esplenocitos murinos normales

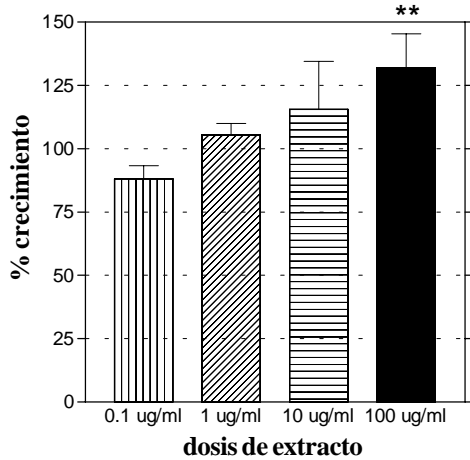
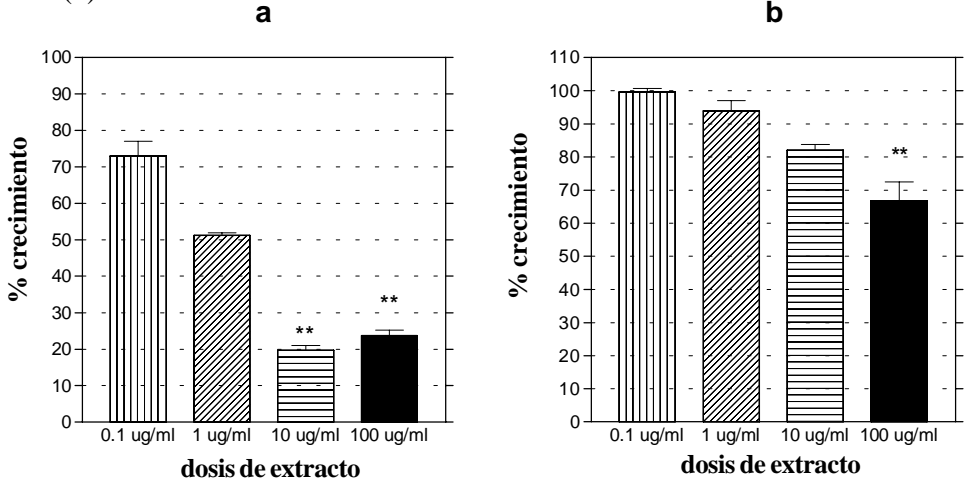


Figura 15.- Efecto de distintas dosis de extracto de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de esplenocitos murinos estimulados con ConA (a) y esplenocitos murinos estimulados con LPS (b)



Está comprobado que la actividad anticancerígena no es debida solamente a la inhibición de la proliferación celular sino también a la inducción de citoquinas y a los efectos inmunoadyuvantes (Hostanska y col., 1995). Esta capacidad puede atribuirse a una lectina galactósido específica, que induce secreción de citoquinas por parte de las células mononucleares in vitro y una acción antitumoral y antimetastática en linfosarcomas murinos (Gabius y col., 1992). Los estudios realizados en ratones Balb/c han demostrado que la lectina MLI es el componente inmunoactivo del extracto, porque después de la depleción de la lectina la actividad inmunomoduladora desaparece (Beuth y col., 1995; Beuth y col., 1996). Por esta razón, los estudios sobre el efecto inmunomodulador de *L. cuneifolia* son determinantes para asegurar su potencial inmunoterapéutico.

Los extractos acuosos de *L. cuneifolia* demostraron que eran capaces de inhibir el crecimiento de las células activadas tumorales y normales tratadas con los mitógenos ConA o LPS. Por el contrario, los extractos ejercieron un leve efecto estimulante, no significativo desde el punto de vista estadístico, sobre células normales no estimuladas (Figuras 14, 15 y 16).

Figura 16.- Efecto de distintas dosis de extractos de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de células leucémicas murinas LB

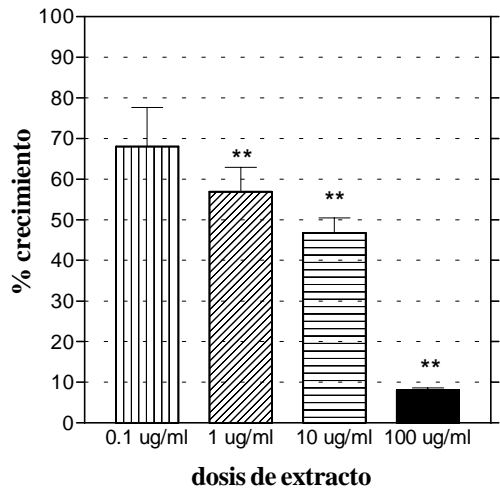


Figura 17.- Efecto de distintas dosis de extractos de *L. cuneifolia* sobre la apoptosis de (a) esplenocitos murinos normales y (b) células leucémicas murinas LB

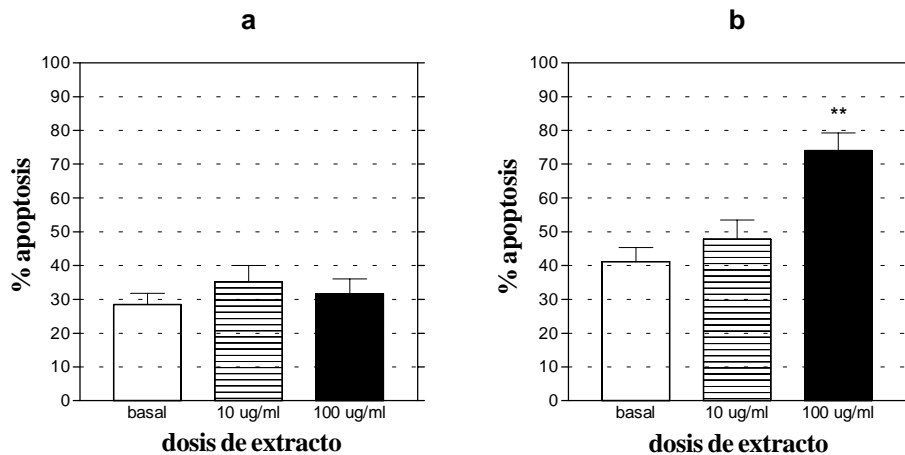
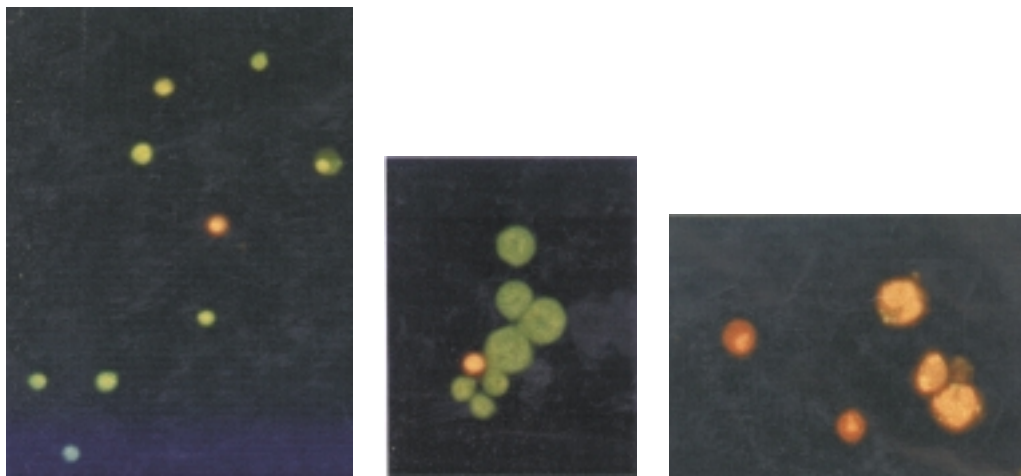


Figura 18.- Observación microscópica de apoptosis celular por coloración con bromuro de etidio-naranja de acridina



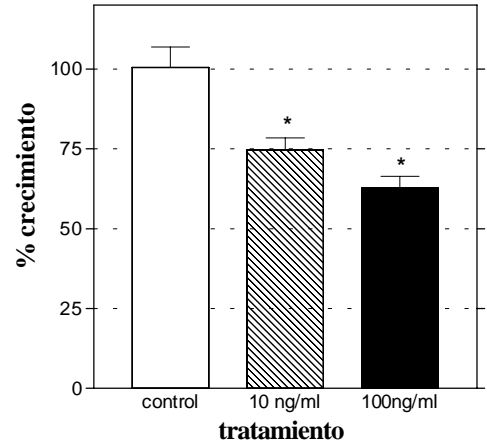
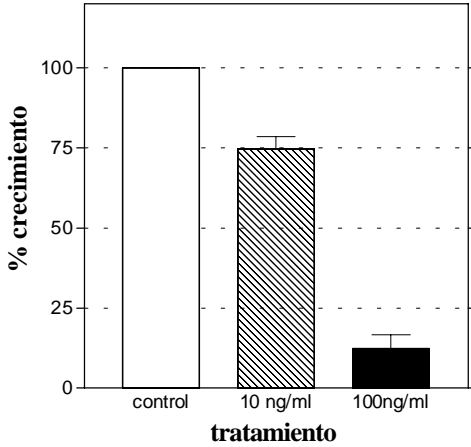
A: Esplenocitos murinos normales en presencia de extracto de *L. cuneifolia*.

B: Células LB en ausencia de extracto de *L. cuneifolia*.

C: Células LB en presencia de extracto de *L. cuneifolia*.

Células teñido con naranja de acridinia (verde) corresponde a células viables.
Células teñidas con bromuro de etidio (naranja) corresponde a células muertas.

Figura 19.- Efecto de la lectina L-Lc de *L. cuneifolia* sobre la proliferación de células leucémicas murinas LB

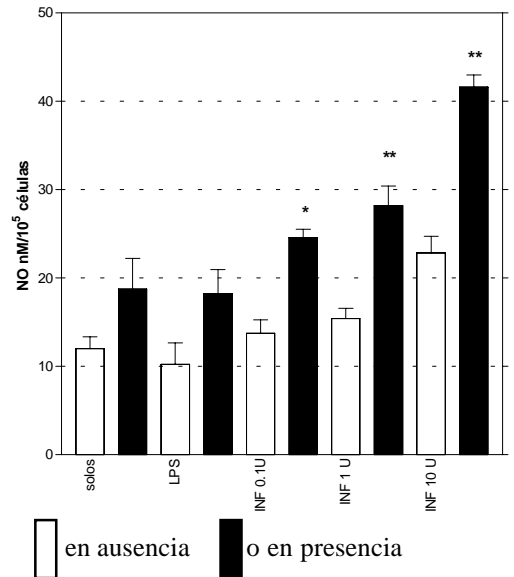


Para dilucidar el mecanismo que conduce a la inhibición de la proliferación celular, se analizó la inducción de apoptosis en presencia del extracto acuoso. Las células tumorales LB, en presencia de los extractos, mostraron un aumento del nivel de apoptosis. Por el contrario, los esplenocitos normales tratados con extractos acuosos no modificaron su índice de muerte por apoptosis en relación con las células normales no tratadas (Figuras 17 y 18).

Una lectina galactósido-específica aislada de extractos acuosos de *L. cuneifolia* (L-Lc) fue responsable de una inhibición de un $27 \pm 2 \%$ (10 ng/ml) y $88 \pm 3 \%$ (100 ng/ml) del crecimiento de células tumorales LB in vitro (Figura 19). Este efecto también fue demostrado para las lectinas del muérdago europeo (Gabius y col., 1992).

Cuando los extractos estuvieron presentes en el cultivo de macrófagos preactivados por ConA (solos o estimulados con LPS o Interferón γ) fue posible verificar un incremento en la producción de óxido nítrico (Figura 20). Este fenó-

Figura 20. Producción de óxido nítrico por macrófagos peritoneales murinos



del extracto acuoso de *L. cuneifolia* con distintos tratamientos: solos, con LPS-100 μ g/ml; con IFN (recombinante murino 0.1–10 U/ml.)

meno se produce debido a la activación de la enzima óxido nítrico sintasa, que genera niveles de óxido nítrico que, a su vez, permite la activación de los macrófagos. Este mecanismo desempeña un papel importante en la destrucción de los microorganismos y las células tumorales, que constituiría un hecho relevante para una posible acción terapéutica (Cui y col., 1994).

Conclusión

Las características anatómicas principales para reconocer *L. cuneifolia* son: la presencia de esclereidas irregulares con cristales cúbicos de oxalato de calcio y la ausencia de súber en el tallo. Es probable que la gruesa cutícula cumpla la función del corcho (epidermis cuticular) (Metcalf y col., 1957).

El estudio micromolecular indica que el único flavonol detectado es quercetina. *L. cuneifolia* presenta un metabolismo simple para la síntesis de los flavonoles, a pesar de que es glicosilada con diferentes azúcares.

También se detecta la presencia de leucoantocianidinas y proantocianidinas que producen cianidina después del tratamiento ácido. La biosíntesis de estos compuestos es más compleja y los monómeros se encuentran libres o en diferente grado de polimerización.

Los estudios realizados sobre el "muérdago criollo" en modelos animales han permitido establecer efectos biológicos sobre el sistema cardiovascular y una acción citostática e inmunomoduladora.

Los efectos cardiovasculares observados indican que las infusiones de *L. cuneifolia* producen, según el hospedante, un efecto presor acompañado, o no, de vasodilatación, y un efecto cardíaco variable.

Los extractos acuosos de *L. cuneifolia* fueron capaces de producir inhibición en el crecimiento de las células linfoides activadas. Esta inhibición estaría mediada por la inducción de la muerte celular a través de un mecanismo apoptótico. Además, estos extractos pueden modular la actividad de las células macrofágicas a través de la inducción en la producción de óxido nítrico.

Una lectina galactósido-específica presente en el extracto acuoso inhibe la proliferación de las células tumorales LB. La lectina galactósido-específica es el primer componente aislado responsable de una acción biológica en esta especie.

La revisión realizada sobre *L. cuneifolia* contribuye a un mejor conocimiento de esta especie de la flora argentina, empleada por sus efectos beneficiosos en medicina popular.

Referencias bibliográficas

- Abbiatti, D. (1946). "Las Lorantáceas Argentinas". *Revista del Museo de La Plata* (nueva serie) 7 (sección botánica): 1-110.
- Abbiatti, D. (1949). "Una nueva variedad de *Psittacanthus cuneifolius*". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 3 (1): 34.

- Arenas P. (1982). "Recolección y agricultura entre los indígenas Maká del Chaco Boreal". *Parodiana* 1(2): 171-243.
- Barlow, B.A. (1964). "Classification of the Loranthaceae and Viscaceae". *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 89: 268-272.
- Barlow, B.A.; Hawsksworth, F.G.; Kuijt, J.; Polhill, R.M. y Wiens, D. (1989). "Genera of Mistletoes". *The Golden Bough* 11: 1-3.
- Becker, H.; Exner, J. y Schilling, G. (1978). "Isolierung und Strukturaufklärung von 2'-hydroxy-4', 6'-dimethoxychalcon-4-glukosid aus *Viscum album* L." *Z. Naturforsch.* 33 c: 771-773.
- Becker, H. y Exner, J. (1980). "Vergleichende Untersuchungen von Mistel verschiedener Wirtsbäume an Hand der Flavonoide und Phenolcarbonsäuren". *Zeitschrift für Pflanzen physiologie*. Bd. 97 (5): 417-428.
- Becker, H. (1986). "Botany of European Mistletoe (*Viscum album* L.)". *Oncology* 43 (supl. 1): 2-7.
- Benigni, R.; Capra, C. y Cattorini, P.E. (1964). *Piante Medicinali, Chimica, Farmacologia e Terapia*. Vol II, Inverni della Beffa, Milán: 1760-1782.
- Beuth, J.; Stoffel, B.; Ko, H.; Jeljaszewicz, J. y Pulvere, G. (1995). "Immunomodulating activity of galactoside-specific lectin standardized and depleted mistletoe extract". *Arzneimittel-Forsch./Drug Res.* 45 (II): 1240-1242.
- Beuth, J.; Stoffel, B.; Samtleben, R.; Stoak, O. y col. (1996). "Modulating activity of mistletoe lectins 1 and 2 on lymphatic system in BALB/c mice". *Phytomedicine* 2: 269-273.
- Bloksma, N.; Schimiermann, P.; de Reuver, M.; van Dijk, H. y col. (1982). "Stimulation of humoral and cellular immunity by *Viscum* preparations". *Journal of Medicinal Plant Research* 46: 221-227.
- Büssing, A.; Suzart, K.; Bergmann, J.; Pfeiller, U.; Schietzel, M. y Schuweizer, K. (1996). "Induction of apoptosis in human lymphocytes treated with *Viscum album* L. is mediated by the mistletoe lectins". *Cancer Letters* 99: 59-72.
- Cui, S.J.; Reichner, J.S.; Mateo, R.B. y Albina, J.E. (1994). "Activated murine macrophages induce apoptosis in tumor cells through nitric oxide-dependent or independent mechanism". *Cancer Research* 54: 2462-2467.
- Diem, J. (1950). "Las plantas huéspedes de la lorantacea *Phrygillanthus tetrandrus* (R. et P.) Eichl.". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 3: 177-179.
- Domínguez, J.A. (1928). *Contribuciones a la Materia Médica Argentina*. Peuser, Buenos Aires: 260-264.
- Fernández, T.; Wagner, M.L.; Varela, B.G.; Ricco, R.A.; Hajos, S.E.; Gurni, A.A. y Álvarez, E. (1998). "Study of an Argentine Mistletoe, the hemiparasite *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae)". *Journal of Ethnopharmacology* 62: 25-34.
- Ferraras, J.L.; Iglesias, R.; Barbieri, L.; Alegre, C.; Bolognesi, A.; Rojo, M.A.; Carbajales, M.; Escarmis, C. y Girbés, T. (1995). "Effects and molecular action of ribosome-inactivating proteins on ribosomes from *Streptomyces lividnas*". *Biochimica et Biophysica Acta* 1243: 85-93.
- Font Quer, P. (1962). *Plantas Medicinales: El Dioscórides Renovado*. Labor, Barcelona: 136-139.
- Gabius, S.; Joshi, S.; Kayser, K. y Gabius, H. (1992). "The galactoside-specific lectin from mistletoe as biological response modifier". *International Journal of Oncology* 1: 705-708.
- Graziano, M.N.; Widmer, G.A.; Julián, R. y Coussio, J.D. (1967). "Flavonoids from the argentine mistletoe *Psittacanthus cuneifolius*". *Phytochemistry* 6: 1709-1711.
- Hajto, T. (1986). "Immunomodulatory effects of Iscador: A *Viscum album* preparation". *Oncology* 43 suppl. 1: 51-65.
- Hostanska, K.; Hajto, T.; Spagnoli, G.; Fiher, J.; Lentzen, H. y Herrman, R.A. (1995). "Plant Lectin derived from *Viscum album* induces cytokine gene expression and protein production in cultures of human peripheral blood nononuclear cells". *Natural Immunity* 14: 295-304.
- Izquierdo, J.A. y Starita, J.A. (1955). "Acciones vasculares de *Phrygilanthus flagellaris* y del *Psittacanthus cuneifolius*". *Revista Farmacéutica* 97: 177-181.
- Jurin, M.; Zarkovic, N.; Hrenjak, M. e Ilic, Z. (1993). "Antitumorous and immunomodulatory effects of the *Viscum album* L. Preparation Isorel". *Oncology* 50: 1-6.

- Kuijt, J. (1988a). "Revision of *Tristerix* (Loranthaceae)". *Systematic Botany Monographs* 19: 1-61.
- Kuijt, J. (1988b). "Monographs of the Eremolepidaceae". *Systematic Botany Monographs* 18: 1-60.
- Lefkowitz, R.Y.; Hoffman, B.B. y Taylor, P. (1991). "Transmisión neuro-humoral: los sistemas nerviosos autónomos y motor somático". En: Goodman Gilman, A.; Rall, T.W.; Nies, A.S. y Taylor, P. (eds.). "Las bases farmacológicas de la terapéutica" 8ª ed. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires: 97-113.
- Luther, P. y Becker, H. (1987). "Parasitische Phase". *Die Mistel: Botanik, Lektine, Medizinische Anwendung*. Springer-Verlag Berlín, Heidelberg, New York: 27-35.
- Martínez Crovetto, R. (1964). "Estudios Etnobotánicos I. Nombres de plantas, su utilidad según los indios Tobas del Este del Chaco". *Bonplandia* 1(4): 279-333.
- Martínez Crovetto, R. (1981). "Las plantas utilizadas en Medicina Popular en el Noroeste de Corrientes (República Argentina)". *Miscelánea* N° 69. S.M. de Tucumán: Fundación Miguel Lillo: 1-139.
- Metcalfe, C.R. y Chalk, L. (1957). *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press: 1188-1194.
- Nájera, M.T. (1983). "La herboristería en la República Argentina". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 2 (1): 55-59.
- Paris, R.R. y Moysse, H. (1981). *Précis de Matière Medicale*. Tomo 2. Masson, París: 108-110.
- Ratera, E.L. y Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la Flora Argentina empleadas en Medicina Popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 82.
- Stafford, H.A. (1990). *Flavonoid Metabolism*. CRC Press. Inc., Boca Raton, Florida: 1-298.
- Stafford, H.A. (1991). "Flavonoid Evolution: An Enzymic Approach". *Plant Physiology* 96: 680-685.
- Subils, R. (1984). "Eremolepidaceae, Loranthaceae, Viscaceae". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 23 (1-4): 121; 176; 264.
- Taira, C.A.; Wagner, M.L.; Adrados, H.M.; Pino, R. y Gurni, A.A. (1994). "Estudio Farmacológico de un Agente Vasoactivo presente en *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia*". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 13 (2): 91-95.
- Toursarkissian, M. (1980). *Plantas Medicinales de la Argentina. Sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 79.
- Varela, B.G. y Gurni, A.A. (1995). "Anatomía foliar y caulinar comparativa del muérdago criollo y del muérdago europeo". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 14 (1): 21-29.
- Vázquez y Novo, S.P.; Wagner, M.L.; Gurni, A.A. y Rondina, R.V.D. (1989). "Importancia Toxicológica de la presencia de sustancias aminadas en ejemplares de *Ligaria cuneifolia* var. *cuneifolia* colectados en diferentes áreas de la República Argentina". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 8 (1): 23-29.
- Wagner, H.; Feil, B.; Seligmann, O.; Petricic, J. y Kavogjera, Z. (1986). "Phenylpropanes and lignans of *Viscum album* L. Cardioactive drugs V". *Planta Medica* 2: 77-162.
- Wagner, M.L.; Vaccaro, M.C.; Gurni, A.A.; Coussio, J.D. y Rondina, R.V.D. (1986). "Estudio de la variabilidad en compuestos aminados de diferentes ejemplares del género *Phoradendron* que crecen en las zonas centro-oeste y misionera argentinas". *Acta Farmacéutica Bonaerense* 5 (3): 139-148.
- Wagner, M.L. (1993). *Estudios Fitoquímicos Comparativos de los Flavonoides de Loranthaceae de la Flora Argentina. Relación con el Muérdago Europeo*. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Wagner, M.L.; Fernández, T.; Varela, B.G.; Álvarez, E.; Ricco, R., Hajos, S. y Gurni, A.A. (1998). "Anatomical, Phytochemical and Immunochemical Studies on *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae)". *Pharmaceutical Biology* 36 (2): 1-9.
- Youngken, H.W. (1951). "Muérdago". *Tratado de Farmacognosia*. Atlante, México: 365-367.
- Zee Cheng, R.K.Y. (1997). "Anticancer research on Loranthaceae plants". *Drugs of the Future* 22: 519-530.