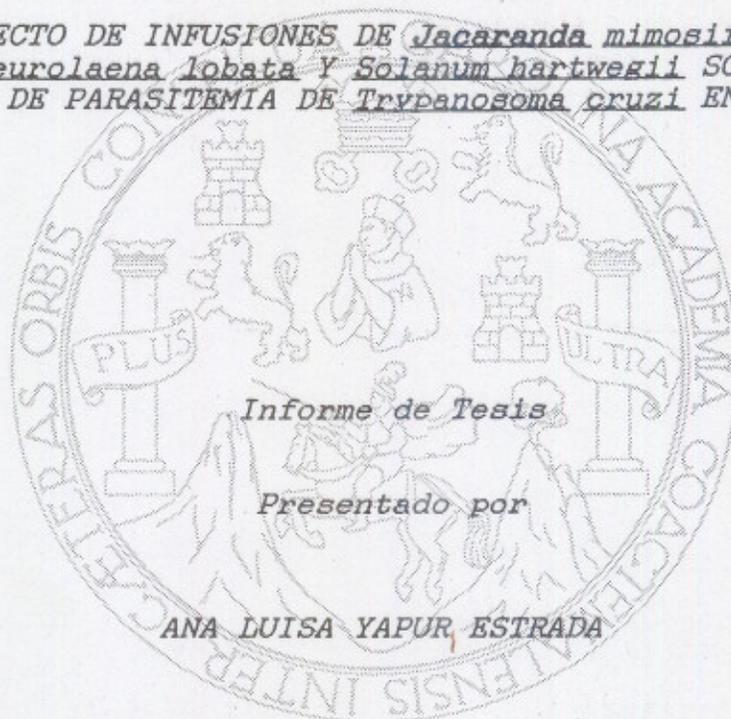


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

EFECTO DE INFUSIONES DE *Jacaranda mimosifolia*,
Neurolaena lobata Y *Solanum hartwegii* SOBRE
CURVAS DE PARASITEMIA DE *Trypanosoma cruzi* EN RATONES



Para optar al Titulo de

QUIMICA BIOLOGA

Guatemala, septiembre de 1994

DL
06
T(1646)

*JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA*

<i>DECANO</i>	<i>LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR</i>
<i>SECRETARIO</i>	<i>LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE</i>
<i>VOCAL I</i>	<i>LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ</i>
<i>VOCAL II</i>	<i>LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN</i>
<i>VOCAL III</i>	<i>LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME</i>
<i>VOCAL IV</i>	<i>BR. JORGE LUIS GALINDO AREVALO</i>
<i>VOCAL V</i>	<i>BR. EDGAR ANTONIO GARCIA DEL POZO</i>

DEDICO ESTE ACTO

A DIOS NUESTRO SEÑOR

A MIS PADRES

*JUAN YAPUR CASTILLO
MARIA LUISA ESTRADA DE YAPUR
Por su amor y apoyo en todo
momento*

A MI TIA

*MINDA VDA. DE MENCOS
Por todo su cariño*

A MIS AMIGOS EN GENERAL

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Carlota Monroy, por su asesoría y consejos brindados en la elaboración de ésta tesis.

A los Licenciados Armando Cáceres y Mildred Mejía, por su valiosa colaboración en la revisión de éste trabajo.

Al Lic. Federico Nave, por su valiosa asesoría estadística.

Al Departamento de Zoología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por haberme brindado la oportunidad de realizar el presente trabajo de investigación.

A todas las personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de éste trabajo.

INDICE

I.	Resumen	3
II.	Introducción	4
III.	Antecedentes	6
	A. Enfermedad de Chagas	
	1. Generalidades	6
	2. Epidemiología	6
	3. Transmisión	8
	4. Formas de infección	8
	5. Inmunidad en ratones	9
	6. Manifestaciones clínicas	10
	7. Prevención y tratamiento	11
	B. <u>Trypanosoma cruzi</u>	
	1. Morfología y ciclo de vida	13
	2. Heterogenicidad y caracterización biológica	15
	C. Plantas Medicinales	17
	1. <u>Jacaranda mimosifolia</u>	20
	2. <u>Solanum hartwegii</u>	21
	3. <u>Neurolaena lobata</u>	23
	D. Razas endogámicas de ratones	25
IV.	Justificaciones	26
V.	Objetivos	27
VI.	Hipótesis	28
VII.	Materiales y métodos	
	A. Universo de trabajo	29
	B. Muestra	29
	C. Recursos y materiales	29
	D. Procedimiento	32
	1. Recolección y procesamiento	32
	2. Extracción	32
	3. Administración	32
	4. Determinación de la acción tripanocida	33
	5. Diseño estadístico	33
VIII.	Resultados	34
IX.	Discusión de resultados	37
X.	Conclusiones	41
XI.	Recomendaciones	42
XII.	Referencias	43
XIII.	Anexos	51

I. RESUMEN

El propósito de esta investigación fue evaluar la acción tripanostática *in vivo* de tres plantas medicinales que eventualmente podrían ser usadas contra la enfermedad de Chagas.

Se usaron ratones como modelo experimental los cuales fueron inoculados con 1×10^4 tripomastigotes/ml de *T. cruzi*. Se evaluó la infección en días alternos por medio de curvas de parasitemia, tanto del grupo control al que se le administró agua, como del grupo de experimentación al que se le administró la infusión de las plantas por vía oral con sonda orogástrica.

De las tres plantas estudiadas, se demostró que *Neurolaena lobata* (Tres puntas) tiene actividad tripanostática *in vivo* a una concentración de 1,000 mg/kg de peso, *Solanum hartwegii* (Huiz) mostró efectividad en la fase descendente de la curva manteniéndose así hasta el día 35, *Jacaranda mimosifolia* (Jacaranda) no mostró ningún efecto tripanostático.

Debido a la variabilidad de resultados entre grupos controles y de experimentación no fue posible hacer un análisis estadístico de los datos de Huiz y Jacaranda, por lo que se realizó un análisis descriptivo de los resultados en base a las curvas de parasitemia.

II. INTRODUCCION

En Mesoamérica el uso de plantas medicinales es muy amplio, y nuestro país por ende no es la excepción, ya que a gran parte de ellas se les atribuye propiedades curativas contra muchas enfermedades.

La enfermedad de Chagas es un mal crónico resultado de la infección por un protozoo flagelado llamado Trypanosoma cruzi. Fue descrita por primera vez en 1909 y se limita al continente americano, especialmente ciudades latino-americanas tropicales y subtropicales. Según la OMS, se estima que 100 millones de personas viven en áreas endémicas en riesgo de desarrollar la fase crónica de la enfermedad con manifestaciones clínicas. Las condiciones de hacinamiento y promiscuidad con animales domésticos, favorece la transmisión de la enfermedad y mantiene el ciclo de aquellas que son al mismo tiempo zoonosis de animales que rodean al hombre. La enfermedad ha sido tratada básicamente con drogas como nifurtimox, benzonidazole, ketokonazole, etc., las cuales presentan una serie de efectos secundarios indeseables y además son muy difíciles de adquirir. En Guatemala se cuenta con un valioso legado de nuestros antepasados como lo es el uso de las plantas medicinales, las cuales son utilizadas para curar diversas enfermedades.

En esta investigación se probaron por primera vez infusiones de plantas medicinales para demostrar su acción tripanostática. Se obtuvo infusiones de Neurolaena lobata (Tres puntas), Jacaranda mimosifolia (Jacaranda) y Solanum hartwegii (Huiz), los cuales fueron administrados por vía oral a ratones infectados con una cepa guatemalteca de T. cruzi (ITD-GT/92/MAR-6). Se evaluó la actividad tripanostática de las plantas por medio de curvas de parasitemia, simultáneamente se inoculó un grupo control para cada planta, a los cuales se les administró agua.

El objetivo primordial fue buscar una alternativa que pueda ser utilizada en el tratamiento de la enfermedad de Chagas, sin los efectos colaterales que presentan la mayoría de drogas.

III. ANTECEDENTES

A. Enfermedad de Chagas

1. Generalidades

En 1909 el científico brasileño Carlos Chagas descubrió un parásito flagelado que causa la Tripanosomiasis Americana, mejor conocida como enfermedad de Chagas. Carlos Chagas llamo a este nuevo protozoo T. cruzi en honor de su profesor Oswaldo Cruz.

Los vectores de esta enfermedad son varias especies de chinches triatominas de la subfamilia Triatominae tales como Triatoma infestans (chinche besadora o vinchuca) y Triatoma dimidiata. El parásito es transmitido comunmente en las heces de las chinches, las cuales son insectos hematófagos estrictos (1).

2. Epidemiología

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana está limitada a la región de las Américas. Aunque existen vectores y reservorios selváticos infectados, inclusive en el Sur de los Estados Unidos, la infección humana se encuentra distribuida casi exclusivamente desde México hasta la Argentina (2,3).

En Guatemala, desde 1932 año en que Richenow del Instituto Tropical de Hamburgo, descubrió los primeros casos en la Finca

Las Viñas, en el Departamento de Santa Rosa, muchos investigadores se han dedicado al estudio de esta patología. Se sabe que los departamentos endémicos son: Jutiapa, El Progreso, Santa Rosa, Chiquimula, Zacapa, Baja Verapaz y Escuintla (4-7).

La mayor parte de los casos se producen en las zonas rurales donde la endemia se mantiene debido a las precarias condiciones socioeconómicas de la población y la naturaleza doméstica del vector. La falta de conocimiento por parte de los habitantes sobre la presencia de los insectos en sus casas y su importancia, es otro factor que ayuda a la persistencia de la enfermedad, ya que los vectores viven y se multiplican en grietas de las paredes, techos y muchos otros lugares en los ranchos construidos de paja, paredes de bajareque, de adobe crudo o recubiertos de hojas secas de banano (8,9).

Con el uso de insecticidas se han logrado algunos resultados satisfactorios contra insectos que habitan en las viviendas. Sin embargo la erradicación total con insecticidas sería difícil y económicamente prohibitiva, debido especialmente a las inmensas zonas geográficas en donde la enfermedad de Chagas es endémica. Se suman a este panorama desafortunado, los datos obtenidos mediante encuestas epidemiológicas en diversos países de la América Latina, las cuales han mostrado que la enfermedad tiene una distribución mucho más amplia de la que originalmente se creía (9,10).

3. Transmisión

El ciclo evolutivo de *T. cruzi* involucra un vector invertebrado que es un insecto triatomino, conocido comunmente con el nombre de chupa sangre, chinchupa, chinches picudas y telépates; y un huésped vertebrado, que puede ser el hombre, perro, gato, roedores y otros mamíferos domésticos y silvestres.

Las especies más importantes de triatominos transmisores son : *Pastronylus megistrus*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* y *Triatoma nítida* (3,11-13).

Los triatominos se infectan al ingerir tripomastigotes de la sangre periférica de mamíferos infectados. En la luz del mesogastrio de los insectos, los organismos se multiplican en forma de epimastigotes y después de un período de 15 a 30 días, su proliferación conduce a la formación de tripomastigotes metacíclicos en el recto del insecto.

Estas formas infecciosas se expulsan con las heces del triatomino, y los tripomastigotes empiezan la infección en nuevos huéspedes al penetrar por las abrasiones de la piel o por las membranas mucosas. Esta transmisión se denomina de estación posterior o por contaminación (14).

4. Formas de infección

En el hombre el *T. cruzi* se transmite por contaminación con las heces de los insectos. La transmisión del parásito

puede efectuarse también por medio de transfusiones sanguíneas, por vía transplacentaria (congénita) o contacto accidental con las sangre de animales infectados (15-17).

5. Inmunidad en ratones

Los anticuerpos juegan un papel importante en la inmunidad de la enfermedad de Chagas a través de la respuesta inmune dependiente de células T. Se sugiere que la respuesta IgG montada por el huésped durante el período preparativo de la infección es crucial para el resultado de la misma y también que los antígenos flagelares son responsables para la reproducción de la respuesta de las células T (17).

El apareamiento de las inmunoglobulinas en ratones depende de la dosis de infección, tiempo después del inóculo y la cepa del parásito. Se han detectado clases y subclases de anticuerpos en ratones después de la infección, IgM e IgG2 se detectaron en el día 40 mientras en el día 150 la IgM fue apenas detectable, pero los anticuerpos IgG2 todavía estuvieron presentes (17,18).

En otros estudios fue evaluada la respuesta inmune del ratón suizo a la infección con *T. cruzi*. Las tres cepas estimularon una elevación de las fracciones de inmunoglobulinas IgG2a, IgG2b e IgM durante la fase aguda, las cuales se midieron por inmunodifusión radial y un inicio temprano en los niveles de IgG1 (18). Se observó una correlación positiva entre

niveles altos de IgG y mortalidad, correspondientes a lesiones tisulares exudativas, mostrando que un pico en el nivel de inmunoglobulina no está asociado con protección. La IgG2a e IgG2b fueron las inmunoglobulinas que mostraron mayor incremento luego de la infección (18,19).

Takehara et al. demostraron que los anticuerpos protectores fueron IgG2 y estuvieron localizados en la subclase IgG2b. Las fracciones IgM e IgG1 mostraron muy poca o ninguna protección (19).

6. Manifestaciones clínicas

La enfermedad de Chagas tiene una fase aguda y otra crónica, separadas por un período indeterminado (de 10 a 15 años) (20).

La fase aguda que prosigue al contacto con el parásito, suele no ser evidente y cursa sin ser diagnosticada. Los síntomas comunes son: fiebre, malestar, linfadenopatía generalizada, hepatosplenomegalia y ocasionalmente miocarditis. En algunos casos hay signos en el lugar de entrada del parásito, un área eritematosa de la piel (chagoma), edema bipalpebral (signo de Romaña). La fase crónica es quizás la etapa más importante ya que produce una mayor morbimortalidad e incapacidad y como no tiene síntomas característicos pasan inadvertidos muchos casos. En los pacientes se observan defectos en la conducción ventricular, arritmias e insuficiencia

cardíaca congestiva.

Aunque pueden ser invadidos todos los órganos, las lesiones más peligrosas para el hombre son las que afectan el corazón y el cerebro y no son raros la presencia de megaesófago y megacolon, dilataciones debidas a la degeneración de los plexos nerviosos (21,22).

En esta fase tardía, la parasitemia es escasa, sin embargo los parásitos son muy numerosos en las células de los tejidos, donde aparentemente están protegidos contra los anticuerpos; para conseguir la supervivencia, los tripomastigotes que salen de las células rotas deben invadir inmediatamente otras células antes de ser atacados por los anticuerpos, por lo que todo tratamiento debe ser dado en la fase aguda que es cuando los tripomastigotes están circulando (21).

7. Prevención y tratamiento

Ya que es muy difícil el mejoramiento de las condiciones de vida, desde el punto de vista económico el mejor método para combatir la enfermedad parece ser el uso de insecticidas en las viviendas, realización de campañas educacionales, especialmente dirigidas a la gente joven ya que el desarrollo de vacunas es aún inaccesible (10).

El tratamiento con las dos drogas en uso, benzonidazole y nifurtimox están asociados con una alta incidencia de serios efectos secundarios como son: neuropatías, erupciones,

disturbios, gastrointestinales y psíquicos, seguidos de anorexia y pérdida de peso (23,24).

La violeta de genciana es el químico más comúnmente usado para tratar sangre en transfusiones sanguíneas. Su mayor desventaja es el color de la sangre y coloración de los tejidos del paciente (24,25).

También se han estudiado antioxidantes fenólicos como BTH, BHA, ácido gálico y sus ésteres en sangre humana infectada con *T. cruzi*. Estas muestras estuvieron libres de parásitos después de tratamiento con BTH 24 horas a 4°C. El BTH y otros compuestos fenólicos necesitan más estudios para determinar su papel en la prevención de la enfermedad de Chagas por transfusión sanguínea (26).

McCabe et al. sugieren que el ketokonazole puede ser un agente potente contra *T. cruzi* y debe ser evaluado más extensamente como un agente quimioterapéutico contra la enfermedad de Chagas (27). Se ha demostrado que un derivado nitroimidazole-tiadiazole (2-amino-5-(1-metil-5-nitro-2-imidazolil)-1,3,4-tiadiazole) muestra un marcado efecto curativo en ratones infectados experimentalmente con *T. cruzi* en dosis de 50-100 mg/kg y dosis de 500 mg/kg (28). El efecto terapéutico del alopurinol fue estudiado en ratones con una infección experimental con *T. cruzi*, el efecto evidenció una reducción significativa de los rangos de parasitemia y mortalidad y un incremento en la supervivencia de los animales tratados (29).

El tratamiento *in vitro* de epimastigotes fue inhibido por

el alopurinol (10 ug/ml), pero los tripomastigotes no fueron afectados (30).

Barrett et al. describieron las propiedades biológicas del nuevo compuesto 353 C con una alta actividad contra muchas cepas de T. cruzi en ratones infectados. El compuesto fue 10 a 20 veces más efectivo que el benzonidazole o nifurtimox, por lo que sugieren estudiarlo como modelo quimioterapéutico (31).

Después del descubrimiento de la enfermedad en 1909 y hasta 1937 ningún compuesto había sido estudiado en humanos con enfermedad de Chagas. Después que un número de compuestos usados in vivo se han descubierto como resultado de programas de búsqueda más extensivos por las industrias farmacéuticas, muchas de estas drogas no curan y son pobremente toleradas (32).

B. T. cruzi

1. Morfología y ciclo de vida

El T. cruzi se encuentra en tres formas morfológicamente relacionadas con tres medios diferentes en que habita el parásito. Los amastigotes, son organismos de forma esférica u ovalada de unas 2 um de diámetro, no poseen flagelo y representan una forma de multiplicación que se encuentra intracelularmente en los mamíferos huéspedes. Estas formas pueden ser obtenidas de tejidos de animales infectados, ciertas líneas celulares o de medios acelulares.

Después de la multiplicación dentro de las células infectadas, los amastigotes se diferencian a tripomastigotes justo antes que la célula se rompa y el parásito escape.

Debido al hecho de que los amastigotes no son fáciles de obtener puros y en grandes cantidades, no han sido estudiados tan ampliamente como los epimastigotes.

Los epimastigotes tienen el cinetoplasto situado delante del núcleo, un flagelo y una membrana ondulante corta, son organismos fusiformes de unas 20 μ m de longitud y son una forma de multiplicación que se encuentra en el tubo digestivo del vector y en los cultivos in vitro. Los epimastigotes se encuentran en el lumen del insecto en el intestino medio, y se multiplican dando muchos flagelados. Los epimastigotes de insectos son derivados de la diferenciación de tripomastigotes de sangre de mamíferos cuando son ingeridos por el insecto cuando chupa la sangre. Epimastigote es el estadio del parásito más fácilmente manipulado en el laboratorio puesto que pueden crecer en grandes cantidades en medios de cultivo acelulares, y bajo condiciones especiales pueden también diferenciarse a formas tripomastigotas, también llamadas formas metacíclicas o tripomastigotes derivados de cultivo acelular.

El estadio epimastigote ha sido extensamente estudiado en su morfología, parámetros bioquímicos y composición antigénica (17,21,33).

Los tripomastigotes tienen el cinetoplasto situado después del núcleo, un flagelo, así como la membrana ondulante a lo

largo del organismo; miden unas 20 μ m de largo y son una forma infecciosa no multiplicativa. Aparecen en la luz del recto de los redúvidos y son infecciosos para los mamíferos. También se encuentran en el mamífero huésped, donde transmiten la infección de una célula a otra o la inician en el redúvido cuando se ingieren con la sangre. Las formas tripomastigotas aparecen en el lumen del recto del insecto y son depositadas con las heces y/u orina, cerca de la herida mientras el insecto está chupando la sangre. Por lo tanto ésta es la forma infectiva del parásito (17,33).

Como se mencionó los tripomastigotes aparecen como productos de diferenciación de epimastigotes en medio de cultivo acelular, pero también pueden ser obtenidos de células de cultivo infectadas o de sangre de animales infectados, especialmente durante la fase aguda de la infección en donde es abundante la parasitemia (33).

2. Heterogenicidad y caracterización biológica

Los *T. cruzi* morfológicamente indistinguibles, son organismos que circulan en la naturaleza en huéspedes vertebrados e invertebrados, y ellos comprenden un gran grupo heterogéneo de parásitos considerados patógenos al hombre. Se ha postulado que cada miembro de un grupo de *T. cruzi* es una clona porque no parece que la sexualidad juegue un papel en la reorganización del genoma. Sin embargo se necesitan técnicas

eficientes en la clonación de *T. cruzi* para el estudio de muchos aspectos de su biología.

El crecimiento clonal es crucial para la identificación de aislados de infecciones naturales y para establecer correlación entre estudios clínicos y de laboratorio, particularmente en casos de infecciones mixtas. La homogenidad genética de las poblaciones de clonas es también un prerequisite para reducir la variabilidad entre las cepas. El parásito muestra un notable grado de heterogenicidad intraespecífica tanto estructural como funcional (32,34).

Por muchos años los investigadores han tratado de caracterizar las cepas de acuerdo a su virulencia, histotropismo, morfología, estructura antigénica, patrones electroforéticos de migración de isoenzimas, organización de los genes en el nivel de cromosomas y tasas de crecimiento en cultivo líquido. Las causas exactas de estas diferencias mostradas por diferentes cepas o clonas de *T. cruzi* en humanos y animales infectados experimentalmente no se conocen, aunque hay evidencias para involucrar factores del huésped y del parásito. Por esta razón los esfuerzos se han dirigido hacia la caracterización e identificación de diferentes clonas de *T. cruzi* (32). Muchos estudios han documentado la existencia de variabilidad intraespecífica de *T. cruzi* en lo que se refiere a sus características biológicas, susceptibilidad a drogas quimioterapéuticas, perfiles isoenzimáticos, perfiles de parasitemia, composición antigénica. Los datos indican que

T. cruzi es un parásito de poblaciones heterogéneas que tiene una gran capacidad de adaptación y un amplio rango de huéspedes mamíferos y chinches triatominas. El pleomorfismo de *T. cruzi* ha sido bien documentado y existe entre y dentro del parásito durante el curso de la infección en un huésped vertebrado (33).

C. Plantas medicinales

La mayoría de la población mundial continúa usando la medicina indígena tradicional, que son los derivados de las plantas para el tratamiento de las enfermedades. Muchas de estas se han usado como antiprotozoarios contra la Malaria y Leishmaniasis. Los alcaloides naturales quinina y emetina son los primeros ejemplos de drogas clínicamente usadas por muchos años como antiprotozoarias (35).

Se han realizado estudios para describir la acción antimalarica de plantas usadas en Brasil contra la fiebre y/o malaria, de 273 extractos crudos solamente 2 tuvieron acción antimalarica significativa que fueron *Eupatorium squalidum* y *Vernonia brasiliana*, administrados oralmente a ratones infectados con *Plasmodium berghei* (36). Extractos obtenidos de hojas de *Azadirachta indica* y *Pisium sativum* se usaron para probar su acción antimalarica en ratones infectados con *P. berghei*, sin embargo solamente *P. sativum* mostró actividad profiláctica significativa disminuyendo el parásito en un 31.9 por ciento, aunque todos los animales murieron (37). También

se han estudiado plantas de la familia de las Cucurbitáceas y se demostró que las hojas de Momordica charantia mostraron fuerte acción antimalarica reduciendo en un 50 por ciento los niveles de parasitemia en ratones infectados con P. berghei (38).

Fournet et al. estudiaron la acción de 14 alcaloides bisbenzilosquinolina in vitro sobre tres cepas de T. cruzi y Leishmania, los cuales mostraron una interesante actividad y por lo tanto deben ensayarse in vivo (39).

Owolabi et al. estudiaron la acción tripanocida de Khaya grandifoliola (familia Meliaceae), usada en Africa Central para curar muchas enfermedades. Encontraron que el principal compuesto activo de la semilla de esta planta es un limonoide, que tiene acción tripanocida sobre cultivos de T. brucei brucei en concentración de 1 mg/ml con una inhibición del 100 por ciento después de 48 horas (40).

González et al. reportan la evaluación del efecto tripanocida de productos de origen vegetal de la flora autóctona del Norte de Chile, especialmente de la familia de las Compuestas, empleando frotos sanguíneos con la cepa Tulahuen de T. cruzi, evaluando lisis celular y mortalidad en los frotos (41).

Arias et al. probaron el efecto tripanocida de extractos de plantas contra tripomastigotes de T. cruzi in vitro, 6 compuestos mostraron una fuerte acción tripanocida sobre las formas sanguíneas de T. cruzi a una concentración de 250 ug/ml llamados dapnandrina, limacina, feantina, dafmolina y cocsulina.

La plumbagina también mostró una fuerte actividad tripanocida y había sido previamente reconocida como un compuesto leishmanicida, bactericida y fungicida (42).

Hocquemiller et al. evaluaron la actividad tripanocida del extracto en éter de petróleo de Oxandra espintanea (familia Annonaceae). Se aislaron cuatro monoterpenos aromáticos, de los cuales dos nuevos: espintanol responsable de la actividad antiparasitaria y el o-metil-espintanol que fue estudiado *in vitro* sobre 20 cepas de T. cruzi y 12 de Leishmania spp. (43).

Asuzu y Chineme estudiaron los efectos de los extractos de hojas de Morinda lucida (familia Rubiaceae), sobre T. brucei brucei en ratones. La supresión de la parasitemia fue dosis dependiente y produjo su máximo efecto con 1,000 mg/kg por via ip.. La mejor actividad tripanocida se obtuvo cuando el tratamiento con el extracto de M. lucida empezó simultáneamente con la inoculación de los tripanosomas (44).

Okanla et al. reportaron la actividad de extractos acuosos de Acalypha hispida (familia Euphorbiaceae), en ratas de laboratorio contra T. brucei brucei. Las inyecciones intramusculares e intravenosas de los extractos fueron más efectivas (45). En Guatemala, el manejo popular de las plantas para el tratamiento de las enfermedades produce resultados positivos, por esta razón es importante comprobar de forma científica las propiedades de las plantas respecto a los efectos que se les atribuyen popularmente.

D. Plantas medicinales usadas en la presente investigación

1. Familia: *Bignoniaceae*
- a. Nombre científico: *Jacaranda mimosifolia* D Don,.
- b. Nombre común: *Jacaranda*
- c. Descripción de la planta

Arboles con hojas simples o compuestas, alternas y opuestas, sin estípulas, las hojas pueden ser simples trifoliadas, emparipinadas, digitadas o bipinadas, flores por lo regular muy vistosas y en forma de embudo, cáliz 5 dentado o 5 partido, corola tubulosa. Estambres 4 fértiles y 1 estéril larguísimo y barbado, las antenas uniloculares por abajo, estigma bilaminado; caja comprimida bivalva y algo carnosa; semillas aladas de 1.5-2.5 cm de ancho (46,47).

d. Origen y distribución

Nativa de América del Sur, de Colombia a Argentina. Plantada en gran número para ornamento en Guatemala, principalmente en elevaciones medias pero también en tierras bajas, más a plenitud en los departamentos centrales y especialmente cerca de Guatemala; naturalizada abundantemente en muchas regiones y extendida rápidamente por sus semillas voladoras, conocido en Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso, Jalapa, Jutiapa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Sololá,

Totonicapán, Huehuetenango, Quezaltenango y Retalhuleu, y probablemente plantado como adorno en muchos otros departamentos (48).

e. Usos medicinales

Las flores se usan popularmente para aliviar la diarrea, especialmente la causada por el protozoo intestinal Entamoeba histolítica (49).

2. Familia: Solanaceae
- a. Nombre científico: Solanum hartwegii Benth.
- b. Nombre común: Huiz, Friega plato, Lava plato,
Berengena
- c. Descripción de la planta

Es un arbusto de 0.5 a 3.5 mt de alto, el tallo está cubierto algunas veces por largos pelos café-rojizo; las ramas son caídas y poseen espinas cortas, las hojas son alternas, de tallo corto ovaloelípticas u ovalolanceoladas superficialmente. Las flores son llenas de color, morado pálido en forma de embudo de 2.5 a 3.5 cm de ancho, con el cáliz y la corola de una sola pieza, dividida en 5 lóbulos, gajos o dientes y casi siempre también con 5 estambres a veces de longitud desigual. Las flores se agrupan en ramilletes semejantes a umbelas o nacen

aisladas de una en una, pero comunmente tanto las flores como los ramilletes nacen fuera de las axilas de la hoja. El fruto es una cápsula o boya dividida en dos compartimientos y con frecuencia cada uno de ellos se subdivide en otros dos (50-52).

d. *Origen y distribución*

Crece silvestre en lugares húmedos, también en matorrales y bosques de pino o encino, del Norte de México a Costa Rica, entre los 1200 y 3200 m de altitud, también se encuentra en las montañas de Martinica (50). En Guatemala es frecuente encontrarla en Alta y Baja Verapaz, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, El Progreso, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Totonicapán y San Marcos (52).

e. *Usos medicinales*

En Alta Verapaz, Guatemala, se aplican cataplasmas de ramas y hojas sobre mordidas de perro. La planta actúa como un madurativo, disolviendo la sangre coagulada. La decocción de las hojas se considera un remedio efectivo para infecciones de los oídos y nariz (50).

3. Familia: *Compositae*
- a. Nombre científico: *Neurolaena lobata* (L.) R. Br.
- b. Nombre común: *Tres puntas, Capitana, Hierba amarga, Mano de Lagarto, Quina*
- c. Descripción de la planta

Es un arbusto semileñoso con un tallo robusto y erecto de 3 m de alto algunas veces con pocas ramas. Las hojas son alternas usualmente de tallo corto, lanceoladas u oblongas, dentadas irregularmente, algunas con 2 lóbulos como pulgares cerca de la base; varían de tamaño, las inferiores de 30 cm de longitud y las superiores mucho más pequeñas, ásperas y peludas. Las flores son pequeñas, amarillas, sin rayas, en cabezas de 6 a 8 mm elevadas, nacidas en panículos terminales de 8 cm o más de ancho. Las semillas son negras de 1.5 mm de largo con una gelatina blanquecina por dentro (50,52).

- d. Origen y distribución

Crece en matorrales y orillas de caminos, desde Yucatán hasta el Norte de Colombia y Venezuela, también en las Indias Occidentales; en altitudes desde el nivel del mar a 1400 m. En Guatemala, se encuentra en Alta Verapaz, Escuintla, Chiquimula, Izabal, Petén, El Progreso, Quezaltenango, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa y Suchitepéquez (50,53).

e. *Usos medicinales*

En Panamá una decocción muy amarga se toma como remedio para la diabetes, malaria y otras fiebres. Los indios emplean la planta como un veneno para peces. El jugo de la planta se frota sobre la piel para repeler picaduras. Los indios Guaymi envuelven sus piernas con las hojas para evitar las mordeduras de las serpientes. En Honduras y Guatemala es muy estimada como remedio contra la malaria y también se toma para aliviar los cólicos. En Belice y Jamaica, la decocción de la planta es muy estimada como un medicamento estomacal. En Cuba, la planta se usa en baños para aliviar erupciones y viruela. En el pasado se tomó como un diurético y la planta era colocada sobre llagas, quemaduras y úlceras. En Costa Rica la infusión de la planta se usa como un tónico estomacal, febrífuga y antidiarreico. En cosimiento se ha empleado como amebicida, además contra la calentura y el tratamiento de las diarreas acompañadas de dolor de estómago, se considera que también combate la malaria. En Venezuela lo usan como cataplasma para contraveneno de serpiente, en maceración se usa como antidiarreico. Extractos de las hojas y tallos muestran acción como repelentes de insectos (50,53).

E. Razas endogámicas de ratones

En una población normal sin endogamia los cromosomas del mismo número derivados de la madre deberían ser diferentes de los derivados del padre. Es posible producir una raza de ratones endogámica por reproducciones repetidas de la raza con hermano y hermana en generaciones sucesivas o hijos con sus progenitores.

Se sabe que el apareamiento entre esos hermanos verdaderos da lugar en la primera generación a un coeficiente de consanguinidad del 25 por ciento. Esta velocidad disminuye en las generaciones siguientes, debido a que el número de células heterocigotas van siendo menores a través de las generaciones.

A pesar de todo, el apareamiento entre hermanos verdaderos durante 10 generaciones consecutivas, puede dar lugar a un coeficiente de alrededor del 90 por ciento. Estos ratones se caracterizan por tener un pool genético similar, lo que es favorable en investigación ya que sus respuestas serán muy similares y la selección de estos permitirá encontrar razas susceptibles o resistentes a una gran variedad de enfermedades (54).

IV. JUSTIFICACIONES

La enfermedad de Chagas es una afección parasitaria de los tejidos y la sangre producida por el hemoflagelado *T. cruzi*. Es un problema endémico de América Latina, que a su vez está relacionado al pobre desarrollo económico y social. Por otro lado la quimioterapia de la enfermedad de Chagas es todavía un tratamiento inadecuado. Se utilizan las drogas nifurtimox y benzonidazole que inhiben el metabolismo de las purinas, las cuales se asocian con una alta incidencia de efectos secundarios muy serios. Además de las secuelas, estas drogas antiprotozoarias son demasiado caras para la población rural que es la que está en riesgo y no tiene acceso a ellas por no haber disponibilidad en el mercado. Esta situación ha hecho que desde siempre se recurra a costumbres y tradiciones, haciendo uso de la gran variedad de especies vegetales para curar las enfermedades. Hasta el momento no se tiene conocimiento sobre el uso de plantas medicinales para el tratamiento de la enfermedad de Chagas *in vivo*, pero esto será fácil de introducir debido a la distribución de las plantas en casi todos los departamentos de la república y su validación será muy importante en la búsqueda de nuevas alternativas de curación.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar la acción antiprotozoaria in vivo de extractos acuosos de plantas medicinales.

B. Específicos

1. Recopilar información sobre tres plantas que eventualmente puedan ser usadas en el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

2. Ensayar una metodología para determinar la actividad tripanostática en un modelo experimental en ratón.

3. Demostrar la actividad tripanostática de las infusiones de J. mimosifolia (Jacaranda), S. hartwegii (Huiz) y N. lobata (Tres puntas) en ratones infectados con T. cruzi.

VI. HIPOTESIS

Por lo menos una de las infusiones investigadas tiene actividad tripanostática in vivo.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo

Las plantas medicinales usadas para el tratamiento de enfermedades sugestivas de ser producidas por protozoarios.

B. Muestra

Infusiones de *N. lobata* (Tres puntas), *J. mimosifolia* (Jacaranda) y *S. hartwegii* (Huiz). La acción tripanocida se probó sobre una cepa de *T. cruzi* ITD-GT/92/MAR-6, clasificada según criterios de UNDP/World Bank/WHO, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases on Standardization or Methods for *T. cruzi* Classification. Esta cepa fue extraída de ampolla rectal de *T. dimidiata* y pasada a ratón suizo. La chinche fue recolectada en Villa Canales por Antonieta Rodas en agosto de 1992.

C. Recursos

1. Recursos humanos

Estudiante: Ana Luisa Yapur Estrada

Asesora: MSc. Maria Carlota Monroy E.

2. *Recursos institucionales*

Departamento de Zoología, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Edificio T-10, segundo nivel, Universidad de San Carlos de Guatemala.

3. *Recursos materiales*

a. *Cristalería*

- *Beakers de 250 ml.*
- *Portaobjetos 76x26 mm.*
- *Cubreobjetos 22x22 mm.*
- *Pachas de 250 ml.*
- *Pipetas de Thoma.*

b. *Equipo*

- *Fuente de luz*
- *Microscopio*
- *Tijeras de disección*
- *Balanza semi-analítica*
- *Balanza con tapadera para pesar ratones*
- *Estufa*
- *Jeringas luer tip de 1 cc.*
- *Jeringas de 10 cc.*

- Sonda orogástrica

c. Reactivos

- Solución salina al 0.85 %

- Heparina

- Alcohol etílico al 95 %

- Cloroformo GR

- Cloro

- Organos secos de plantas (hojas, flores)

d. Modelo experimental

- Ratones suizos albinos machos de 7 semanas de edad y peso de 25-30 g.

- Cepa guatemalteca de *T. cruzi* ITD/GT/92/MAR-6.

e. Otros

- Cajas plásticas para ratones

- Algodón

- Concentrado para ratón

- Aserrín

D. Procedimiento

1. Recolección y procesamiento

Las plantas se recolectaron en el campo, *N. lobata* en el Departamento de El Petén, *J. mimosifolia* en la zona 9 de la ciudad capital y *S. hartwegii* en la Ciudad Universitaria zona 12. Se determinó la especie, en el Herbario de la Escuela de Biología a cargo del Ingeniero Mario Véliz. Las partes a usar se secaron a temperatura ambiente, a la sombra, luego se pulverizaron y se guardaron en bolsas plásticas de 10 g cada una.

2. Extracción

Se añadieron 100 ml de agua hirviendo a 10 g de planta seca y molida, se dejó reposar por media hora, se filtró y administró inmediatamente.

3. Administración

La infusión se administró a los ratones vía oral por medio de una sonda orogástrica a razón de 1,000 mg/kg de peso por día.

4. *Determinación de la acción tripanostática*

15 ratones albinos machos de 25-30 g fueron inoculados con 1×10^4 tripomastigotes sanguíneos, el día 0. Se dio una dosis diaria de la infusión de la planta por vía oral durante 35 días, empezando 24 horas después de la inoculación, el día 1. Se usó la misma cantidad de ratones sin tratar e inoculados como control. El número de formas sanguíneas circulantes se determinó cada 2 días tomando 5 ul de sangre periférica, cortando un pedacito de la cola del ratón. Estos 5 ul se depositaron en un portaobjetos, colocando después un cubreobjetos de 22x22 mm. La cuantificación de la reducción de parasitemia se calculó por medio de curvas comparando el número de tripomastigotes obtenidos de los ratones bajo administración de la planta y los controles (55).

5. *Diseño estadístico*

Para cada planta se corrió un control, en cada caso se calculó el área bajo la curva de tripomastigotes/ml por día (el análisis se hizo los días 7,9,11,14,16,21,23,25,28,32 y 35). Se corrieron 15 ratones por grupo, eliminándose del análisis los que murieron. Se hizo una prueba de t de Student para comparar los promedios de las áreas del grupo con planta y el grupo control.

VII. RESULTADOS

A. Curva de parasitemia de Jacaranda mimosifolia

En la gráfica 1 se pueden observar las curvas de parasitemia de T. cruzi del grupo control y el grupo de muestra. Durante los primeros días de infección las curvas se comportan en forma similar. La mayor diferencia entre ellas fue en el día 21, en donde el grupo control mostró 77,320 tripomastigotes/ml y el grupo de experimentación 121,390 tripomastigotes/ml (Tabla 1). A partir de entonces las curvas se comportan de manera semejante hasta el día 35 de infección, en el cual fueron sacrificados los ratones. El día de máxima parasitemia fue el día 23 con unos valores de 112,020 tripomastigotes/ml para el grupo control y 125,010 tripomastigotes/ml para el grupo de experimentación (Tabla 1).

Se calcularon los coeficientes de variación del grupo control y el de experimentación. Estos coeficientes fueron muy grandes por lo que se concluye que ante una variación tan grande en ambos grupos no es posible realizar estadística (Tabla 2).

B. Curva de parasitemia de Solanum hartwegii

En la gráfica 2 se pueden observar las curvas de parasitemia de T. cruzi del grupo control y el grupo de experimentación. Hasta el día 14 las gráficas tuvieron

comportamiento similar y se observó el pico de máxima parasitemia el día 23 en ambas curvas. A partir de entonces empezó a haber diferencia entre las curvas, siendo más notable en el día 25 en el cual el grupo control mostró 154,130 tripomastigotes/ml y el grupo de experimentación 105,300 tripomastigotes/ml (Tabla 3). Es de hacer notar que a partir del día 23 la parasitemia del grupo de experimentación fue menor que la del grupo control y esta diferencia se mantuvo constante hasta el día 35. Se calcularon los coeficientes de variación del grupo control y el de experimentación. Estos coeficientes fueron muy grandes por lo que se concluye que ante una variación tan grande en ambos grupos no es posible realizar estadística (Tabla 4).

C. Curva de parasitemia de Neurolaena lobata

En la gráfica 3 se pueden observar las curvas de parasitemia de T. cruzi del grupo control y el grupo de experimentación. El comportamiento de las curvas es similar del día 7 al 10, ya que a partir de entonces se puede notar que empiezan a haber diferencias y la máxima diferencia fue en el día 23 en donde el grupo control mostró 239,370 tripomastigotes/ml y el grupo de experimentación 187,770 tripomastigotes/ml (Tabla 5). A partir de entonces el grupo de experimentación mostró menos parasitemia hasta el día 35. Se calcularon los coeficientes de variación que en este caso fueron

menores de 35 y se realizó la prueba de t de student al grupo control y el de experimentación, con lo cual se concluye que los datos son confiables y al compararse entre si, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p < 0.05$) (Tabla 6).

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

La enfermedad de Chagas es una afección parasitaria de los tejidos y la sangre producida por *T. cruzi* y es un problema endémico de la América Latina en la cual hay 100 millones de personas en riesgo y de 16 a 18 millones infectadas (14).

La quimioterapia usada hasta el momento no es adecuada, ya que las drogas que se utilizan se asocian con una alta frecuencia de efectos colaterales y en ocasiones con alta toxicidad, además de ser muy difíciles de adquirir en el mercado y sus precios no están al alcance de la población a riesgo (23). Por tal motivo uno de los propósitos de este estudio fue buscar alternativas de terapia que puedan estar al alcance de los afectados.

Se evaluó la acción antiprotozoaria de tres plantas medicinales que la literatura informa que son usadas por la población guatemalteca para el tratamiento de enfermedades causadas por protozoos. Se pretendía estudiar específicamente la acción tripanostática *in vivo* por lo que se utilizaron ratones como modelo experimental. Para ésto se infectaron dos grupos de 15 ratones cada uno para cada planta, al grupo control se le administró agua y al grupo de experimentación la infusión de la planta. Se evaluó simultáneamente la parasitemia microscópica de ambos grupos en días alternos.

En vista que los datos entre los grupos control y los de *Solanum hartwegii* y *Jacaranda mimosifolia* presentaron

coeficientes de variación mayores de 35 no fue posible realizar la prueba de t de student. Sin embargo un estudio descriptivo de los resultados da una idea general del efecto de cada planta sobre la curva de parasitemia de *T. cruzi*, indicando con esto que no existe actividad tripanostática.

La variación entre grupos controles y de experimentación puede haberse debido a la manipulación de que fueron objeto los ratones para poder administrarles tanto el agua como la infusión durante 35 días consecutivos, esta manipulación se debió fundamentalmente a la falta de un bioterio de adecuadas condiciones para poder mantener animales infectados, lo que significa que los ratones eran trasladados de lugar todos los fines de semana para poder cumplir con el tratamiento, a factores como la inmunidad natural de los animales, que aunque fueron de la misma camada muestran diferencias intrínsecas como lo demuestra el hecho de que algunos de ellos hayan desarrollado parasitemias tan altas con respecto a los demás y que éstas hayan sido la causa de la muerte. La mortalidad de los ratones fue notoria cuando se alcanzaron 405,400 parásitos/ml, ésta es una característica de la letalidad de la cepa ITD-GT/92/MAR-6. Tanto en los ratones control como en los de experimentación, la parasitemia máxima de esta cepa en particular fue alrededor del día 24.

La literatura informa que la Jacaranda es ampliamente usada como antiprotozoaria, siendo aparentemente efectiva en contra del protozoo intestinal *Entamoeba histolytica* (49) cuando la

infusión es administrada oralmente, sin embargo en este caso no tuvo ningún efecto debido posiblemente a que *T. cruzi* es un protozoo de la sangre y los tejidos y no intestinal.

Tres plantas se ha usado con efectividad contra la malaria y en este caso mostró ser efectiva también en contra de *T. cruzi* que al igual que *Plasmodium* es un parásito de la sangre (56), la concentración de la planta fue 1,000 mg/kg de peso y como se observa en la gráfica 3 la máxima diferencia es al día 23.

Al realizar la *t* de student se encontró una diferencia estadísticamente significativa ya que en este caso la parasitemia del grupo de experimentación fue mucho menor que la del grupo control y los coeficientes de variación menores de 35.

Es importante mencionar que en esta investigación el objetivo primordial era saber si una de las plantas disminuía la parasitemia *in vivo* o no, por esa razón se trabajó con una dosis de 1,000 mg/kg de peso como máximo, sabiendo que era una dosis bastante grande para probar efectividad y que muchas veces a esta concentración se evalúa toxicidad, ya que para fines prácticos es importante conocer la relación dosis/efecto y pureza/efecto. El Huiz es la primera vez que se estudia como antiprotozoaria. Esta planta mostró tener acción tripanostática a una concentración de 1,000 mg/kg de peso, como se observa en la gráfica 2 tiene un efecto más sostenido, sin embargo debido a que los coeficientes de variación entre el grupo control y el de experimentación fueron mayores de 35, no se puede afirmar que sea efectiva .

Con esta planta el comportamiento del parásito fue diferente ya que hasta el día 23 los recuentos fueron muy similares, sin embargo a partir del día de máxima parasitemia los resultados del grupo de experimentación se mantuvieron menores que el grupo control hasta el día 35, por lo que sería interesante realizar el estudio procurando tener una menor variabilidad.

Debido a que los coeficientes de variación de Jacaranda y Huiz fueron mayores de 35 no se hizo prueba estadística, aunque no se descarta que sean de utilidad y que posean otras acciones farmacológicas como amebicida la primera, y como antibacteriana y febrífuga la segunda. El principal objetivo de este trabajo era comprobar la hipótesis de que por lo menos una infusión de planta tuviera actividad tripanostática in vivo, lo que se pudo demostrar satisfactoriamente con Tres puntas.

X. CONCLUSIONES

A. En algunos grupos de experimentación los coeficientes de variación fueron mayores de 35, lo cual indica demasiada variación entre los mismos, debido posiblemente al efecto de la manipulación en el momento de infectarlos o de administrarles la infusión y a las condiciones desfavorables de mantenimiento por falta de un bioterio adecuado, lo cual repercutió de manera que el error humano fue mayor del que se esperaba.

B. Tres puntas comunmente usada como antimalárica mostró un marcado efecto tripanostático el cual es estadísticamente significativo.

C. El Huiz comunmente usado como antimalárico mostró cierto efecto tripanostático sobre el parásito *T. cruzi* aunque no fue estadísticamente significativo, especialmente después del punto máximo de parasitemia.

D. La Jacaranda comunmente usada como antiamebiana, no tuvo ningún efecto sobre el parásito *T. cruzi*.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Adecuar las instalaciones para un bioterio en el que se puedan mantener animales infectados en condiciones estándar de trabajo.
- B. Los informes más recientes de trabajos con animales de experimentación sugieren que el número ideal de animales es 5 para que la manipulación sea más fácil. En esta investigación se trabajaron lotes de 15 ratones cada uno y hubo algunos inconvenientes ya que eran demasiados animales.
- C. Determinar la concentración inhibitoria mínima y dosis efectiva 50 (DE₅₀) para la infusión de Tres puntas y saber a qué concentración se inicia la acción tripanostática.
- D. Efectuar estudios de toxicidad de la infusión de Tres puntas con el objeto de establecer si existe algun tipo riesgo para las personas que utilicen dicha planta contra la enfermedad de Chagas.
- E. Continuar las investigaciones sobre Huiz, tratando de evitar la variabilidad extrema para comprobar su efectividad sobre la curva de parasitemia de *T. cruzi*.
- F. Efectuar estudios fitoquímicos de Tres puntas para dilucidar los principios activos responsables de la actividad tripanostática, ya que la información disponible es sumamente escasa.

XII. REFERENCIAS

1. *Pérez AG. Estudio sobre la inmunidad al agente de la enfermedad de Chagas en regiones escogidas de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1980. 36p.*
2. *Organización Panamericana de la Salud. Situación de la enfermedad de Chagas en las Américas. Bol. Epidemiol 1984; 5(2):5-9*
3. *Tizard I. Immunology and pathogenesis of Trypanosomiasis. Boca Ratón, Florida: CRC Press, Inc. 1985. XIII+237 p. (p.145-183)*
4. *Castillo AL. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en el sur-oriente de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1987. 55p.*
5. *Mazariegos RL. Prevalencia de la enfermedad de Chagas en donadores de banco de sangre. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1986 87p*
6. *Ramírez JL. Efectos del terremoto de 1976 sobre la incidencia de la enfermedad de Chagas en varios municipios de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de*

- Ciencias Químicas y Farmacia*) 1988. 89p.
7. González SB. *Prevalencia de la enfermedad de Chagas en Puerto Barrios, Izabal. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1989. 62p.*
 8. Herrera PA. *Estudio serológico de la cardiopatía chagásica en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1989. 62p.*
 9. Petana W. *La importancia de los efectos clínicos, psicológicos y sociales experimentados en pacientes con Tripanosomiasis Americana (enfermedad de Chagas). Bol OPS 1980; 88:214-217*
 10. Goldsmith R, *et al.* *Estudios epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Oaxaca, México. Bol OPS 1979; 87:1-19*
 11. *Organización Panamericana de la Salud. Enfermedad de Chagas. Bol Epidemiol 1982; 2(2):14-19*
 12. Brener Z, Andrade Z. *T. cruzi e Doença de Chagas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. 680p.*
 13. Monroy C. *Vectores de la Enfermedad de Chagas en Guatemala. Guatemala: Memoria del I Seminario Internacional de Enfermedades Tropicales. JICA, 1992. 128p.*
 14. *World Health Organization. Immunology of Chaga's*

- disease. *Memoranda* 1974; 50:459
15. Organización Panamericana de la Salud. *Enfermedad de Chagas. Bol Epidemiol* 1982; 3(3):1-5
 16. de Tercero C. *Congenital Chagas Disease: Correlations between clinical manifestations and serological reactivity to T. cruzi peptides and laminin. Stockholm, Sweden: The Karolinska International Research Training Program. (Tesis de Maestría) 1990. 48p.*
 17. de Gómez C. *Serology in Chagas Disease. A comparative study in human and experimental infections. Stockholm, Sweden: The Karolinska International Research Training Program. (Tesis de Maestría) 1990. 34p.*
 18. Andrade S, *et al.* *Inmunological response of Swiss mice to infection with three different strains of Trypanosoma cruzi. Ann Of Trop Med Parasitol* 1985; 79(4):397-407
 19. Takehara HA, *et al.* *Trypanosoma cruzi: role of different antibody classes in protection against infection in the mouse. Exp Parasitol* 1981; 52(1):137-146
 20. *American Hearth Journal. Cardiomiopatía crónica de Chagas. ILADIBA* 1991. 8:36-37
 21. Beck JW, Davis JE. *Parasitología Médica. 3 ed.*

- Elizondo, R. trad. Mexico: Interamericana, 1984.
VIII+340p. (p. 63-68)
22. Pinto JC. *Cardiopatía chagásica: Mito y desafío.*
Arch Inst Cardiol Mex 1990; 60:119-120
23. Litter M. *Farmacología Clínica y Experimental.* 7
ed. Buenos Aires: El Ateneo, 1986. 1872p. (p.1702-
1703)
24. Reyna F. *Detección de infección congénita por*
Trypanosoma cruzi en recién nacidos de bajo peso al
nacer. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis
de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1991.
65p.
25. Morello A. *The biochemistry of the action of drugs*
and the detoxication mechanisms in T. cruzi. *Comp*
Biochem Physiol 1988; 90(1):1-12
26. Lettelier ME, *et al.* *Trypanosoma cruzi: A possible*
control of transfusion-induced Chagas Disease by
phenolic antioxidants. *Exper Parasitol* 1990;
71(2):357-373
27. McCabe R, Araujo F, Remington J. *Ketokonazole*
protects against infection with T. cruzi in a
murine model. *Ann J Trop Hyg* 1983; 32(5):960-965
28. Filardi LS, Brener Z. *A nitroimidazole-thiadiazole*
derivate with curative action in experimental T.
cruzi infections. *Ann Of Trop Med Parasitol* 1982;

- 76(3):293-297
29. Avila JL, Avila A. *Trypanosoma cruzi*: allopurinol in the treatment of mice with experimental acute Chagas disease. *Exper Parasitol* 1981; 51(2):204-208
 30. Avila JL, Avila A, Muñoz E. Effect of allopurinol on different strains of *T. cruzi*. *Amer J Trop Med Hyg* 1981; 30(4):769-774
 31. Barret PA, *et al.* The efficacy of a novel compound, (E)-1-(4-bromo-4-biphenyl)-1-(4-chlorophenyl)-3-dimethylaminoprop-1-ene against *T. cruzi* in mice. *Experientia* 1982; 38:338-339
 32. Brener Z. Recent advances in the chemotherapy of Chagas Disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 1984; 79:149-155
 33. Carrasco JA. Biological and immunological characterization of *T. cruzi* strains from Honduras. Stockholm, Sweden: The Karolinska International Research Training Program (Tesis de Maestría) 1990. 60p.
 34. Zaldaña A. Immunoparasitological studies of *T. cruzi* clones from Panama. Stockholm, Sweden: The Karolinska International Research Training Program (Tesis de Maestría) 1990. 64p.
 35. Phillipson D, Wright C. Medicinal plants in tropical medicine. 1. Medicinal plants against

- protozoal diseases. *Trans Royal Soc Trop Med Hy*
1991; 85:18-21
36. Carvalho LE, Krettli A. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. Rio de Janeiro: Mem Inst Oswaldo Cruz 1986; 81:154-156
37. Abatan M, Makinde M. Screening Azadirachta indica y Pisium sativum for possible antimalarial activities. *J Ethnopharmacol* 1986; 17:85-93
38. Amorim C, Díaz A, Balao S. Screening of the antimalarial activity of plants of the Cucurbitaceae family. Rio de Janeiro: Mem Inst Oswaldo Cruz 1991; 86:177-180
39. Fournett A, et al. Activite antiparasitaire d'alcaloides bisbenzylisoquinoleiques. II. Activité in vitro sur des epimastigotes de trois souches typifiees de T. cruzi. *J Ethnopharmacol* 1988; 24:337-343
40. Owolabi AO, et al. Trypanocidal potentials of African woody plants: In vitro trial of Khaya grandifoliola seed extracts against Trypanosoma brucei brucei. *J Ethnopharmacol* 1990; 30:227-231
41. González J, et al. Trypanosoma cruzi: In vitro evaluations of trypanocidal action of natural products of vegetable origin. Rio de Janeiro: Mem Inst

- Oswaldo Cruz 1986; 81:154-156
42. de Arias A, et al. Trypanocidal activity of natural products against blood trypomastigote forms of T. cruzi. Annual Reports, IICS 1991; 121-135
43. Hocquemiller R, et al. Isolement et synthese de l'espintanol, nouveau monoterpene antiparasitaire. J Nat Prod 1991; 54(2):445-452
44. Asuzu IV, Chineme CN. Effects of Morinda lucida leaf extract on T. brucei brucei infection in mice. J Ethnopharmacol 1990; 30:307-317
45. Okanla EO, et al. Trypanocidal effect of an aqueous extract of Acalypha hispida leaves. J Ethnopharmacol 1990; 29:233-237
46. Gentry LJ, Stanley P. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. Vols 24, Vol 10, 1954. 151p. (p.119-120)
47. Aguilar JM, Aguilar CA, Aguilar MA. Introducción al estudio de los árboles de Guatemala. Guatemala: Ministerio de Agricultura, Dirección de Recursos Renovables. Vols 2, Vol 2, 1974. 111p. (p.89-92)
48. Stanley P, Williams L, Nash D. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. Vols 24, Vol 11, 1974. 466p. (p.196-197)
49. Acevedo J. Uso de plantas medicinales en problemas del aparato digestivo. Guatemala: CONAPLAMED, 1990.

- 123P. (P.109-116)
50. Morton JF. *Atlas of Medicinal Plants of Middle America*. USA: Illinois, 1981. 1429p. (p.804-805,949)
51. Gentry J, Stanley P. *Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. Vols 24, Vol 11, 1974. 466p. (p.205-207)*
52. Ocampo RA, Moffioli A. *El uso de las plantas medicinales en Costa Rica*. Costa Rica: El Dioscorides Renovado, 1985. 96p. (p.40-41)
53. Nash D, Williams L. *Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. Vols 24, Vol 12, 1974. 420p. (p.272)*
54. Menéndez R. *Animales de laboratorio en las investigaciones biomédicas*. La Habana: Ciencias Médicas, 1986. 203p. (p.60-62)
55. Filardi LS, Brener Z. *A rapid method for testing in vivo the susceptibility of different strains of T. cruzi to active chemoterapeutic agents*. Rio de Janeiro: Mem Inst Oswaldo Cruz 1984; 79(2):221-225
56. Medinilla B. *Evaluación farmacológica y toxicológica in vivo de algunas plantas comunmente empleadas en Guatemala contra la Malaria*. Guatemala: Universidad de San Carlos (Dirección General de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1992. 42p. (p.30-33)

XIII. ANEXOS

GRAFICA 1

CURVAS DE PARASITEMIA DE *T. cruzi* DEL CONTROL Y JACARANDA

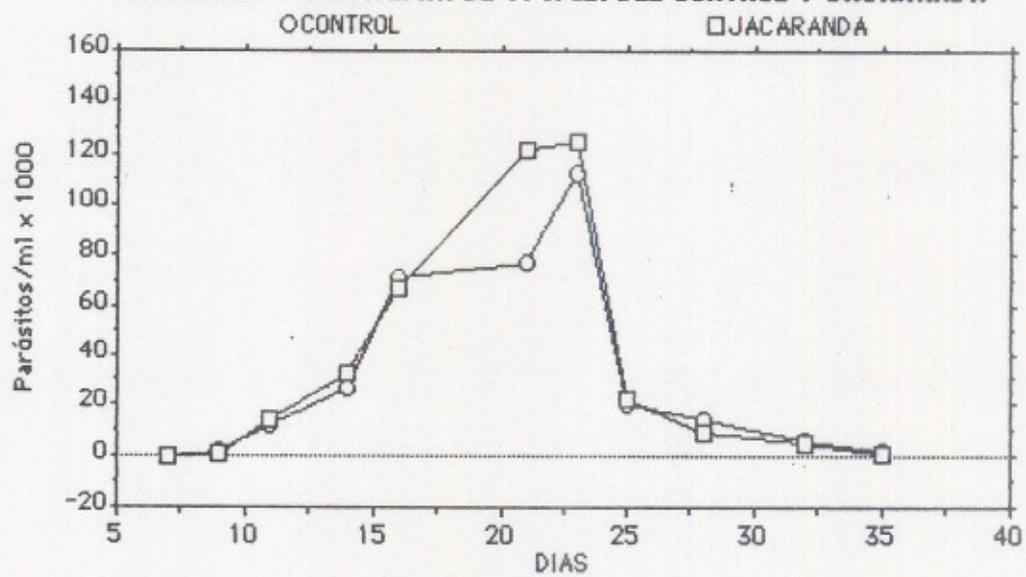


TABLA 1

PROMEDIO DE LAS CURVAS DE PARASITEMIA (parásitos/ml x 1000)
DE *T. cruzi* DEL CONTROL Y JACARANDA

DIAS	CONTROL	JACARANDA
7	0.09	0.00
9	1.45	0.86
11	12.51	14.31
14	26.32	32.90
16	70.55	67.14
21	77.32	121.39
23	112.02	125.01
25	20.37	22.91
28	14.63	8.53
32	5.92	4.60
35	1.57	0.96

TABLA 2
 ÁREAS DE LOS DOS TRATAMIENTOS

No. RATON	CONTROL	JACARAMBA
1	646.70	2277.70
2	1241.50	1038.30
3	940.30	2207.00
4	2200.60	1789.40
5	1556.30	648.90
6	475.60	1693.00
7	1286.00	335.00
8	704.70	956.60
9	971.80	1351.60
10	899.50	768.10
11	940.80	570.30
12	389.90	877.60
13	315.70	483.10
14		863.60
PROMEDIO	966.88	1134.30
D. ST.	518.19	630.44
C.V.	53.59	55.58

GRAFICA 2

CURVAS DE PARASITEMIA DE *T. cruzi* DEL CONTROL Y HUIZ

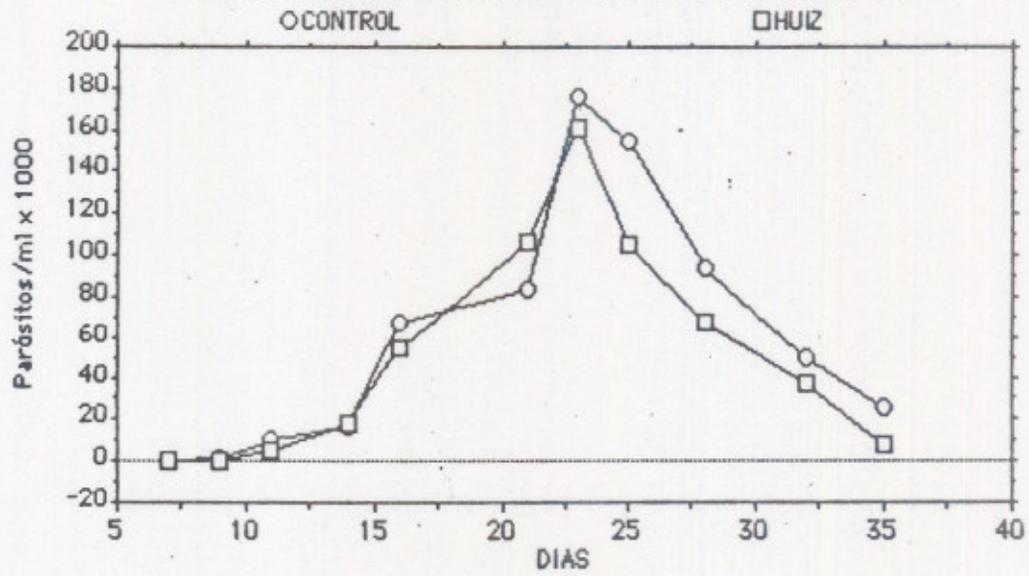


TABLA 3

PROMEDIO DE LAS CURVAS DE PARASITEMIA (parásitos/ml x 1000)
DE T. cruzi DEL CONTROL Y HUIZ

DIAS	CONTROL	HUIZ
7	0.10	0.00
9	1.08	0.75
11	10.60	5.40
14	16.95	17.83
16	67.83	55.05
21	84.18	106.57
23	175.53	160.82
25	154.13	105.30
28	94.37	66.80
32	49.85	36.45
35	25.37	7.58

TABLA 4

AREAS DE LOS DOS TRATAMIENTOS

No. RATON	CONTROL	HUIZ
1	2843.90	2717.10
2	3846.30	1260.10
3	3518.90	1468.90
4	2505.90	965.30
5	2797.10	1854.70
6	1420.90	1497.70
7	1025.40	1078.40
8	762.30	1905.30
9	959.30	1518.00
10	1642.80	2092.50
11	494.80	1224.00
12	771.30	1412.50
PROMEDIO	1882.41	1582.88
D. ST.	1166.05	490.49
C.V.	61.94	30.99

GRAFICA 3

CURVAS DE PARASITEMIA DE *T. cruzi* DEL CONTROL Y TRES PUNTAS

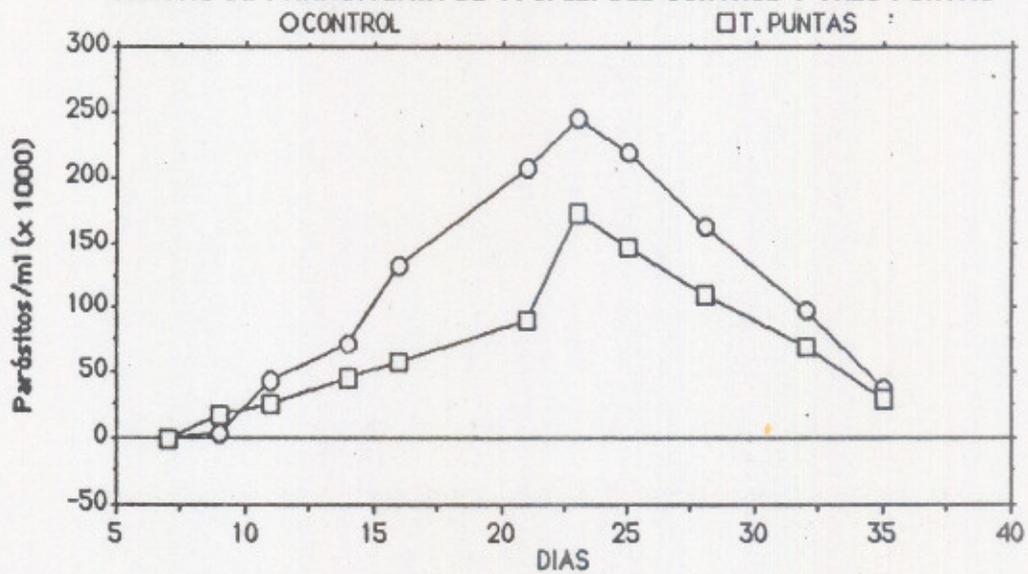


TABLA 5

PROMEDIO DE LAS CURVAS DE PARASITEMIA (parásitos/ml x 1000)
DE T. cruzi DEL CONTROL Y TRES PUNTAS

DIAS	CONTROL	T. PUNTAS
7	0.36	0.46
9	4.08	18.34
11	45.42	26.58
14	73.66	45.90
16	132.76	57.82
21	208.10	90.92
23	246.36	172.44
25	219.91	148.10
28	162.88	111.28
32	98.86	69.72
35	37.94	30.18

TABLA 6

AREAS DE LOS DOS TRATAMIENTOS

No. RATON	CONTROL	TRES PUNTAS
1	5337.00	2540.00
2	2827.60	2686.70
3	2446.20	2344.70
4	4572.10	2969.70
5	3821.60	1778.00
6	4329.80	1506.20
7	3001.15	1606.10
8	2472.25	2051.80
9	3038.55	2041.70
10	3301.00	1803.40
PROMEDIO	3514.73	2132.83
D. ST.	968.05	487.31
C.Y.	27.54	22.85



HERBARIO BIGUA
Escuela de Biología
Facultad de C.C.Q.Q y Farmacia
USAC. Guatemala
Tel. 769856 Fax. 769808

A QUIEN INTERESE:

Por este medio se hace constar que la señorita Ana Luisa Yapur, solicitó al Herbario la determinación de tres plantas utilizadas en su Proyecto de Tesis, siendo éstas:

1. Solanum hattwegii Benth 1839. (SOLANACEAE)
2. Jacaranda mimosifolia D.Don. 1823 (BIGNONIACEAE)
3. Neurolena lobata (L)R.Br 1817 (ASTERACEAE)

La señorita Yapur entregó además, 3 especímenes de cada una de las especies arriba indicadas para que puedan formar parte de las colecciones del Herbario.

Para los usos que convengan a la interesada, se extiende la presente en la ciudad de Guatemala, a los veintitres días del mes de mayo de mil novecientos noventa y cuatro.

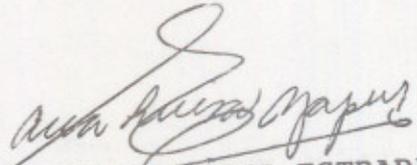
"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. Mario Esteban Véliz
Encargado del Herbario
ESCUELA DE BIOLOGIA

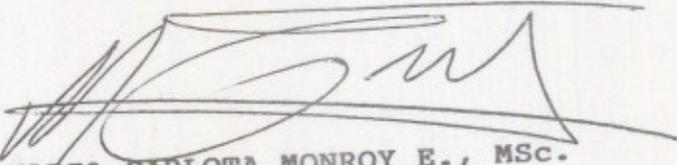
MEV/sdech.



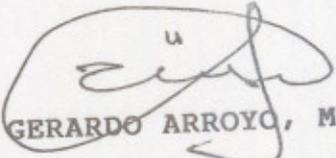
HERBARIO BIGUA
Escuela de Biología
FACULTAD DE C. C. Q. Q.
Y FARMACIA
USAC. Guatemala


ANA-LUISA YAPUR ESTRADA

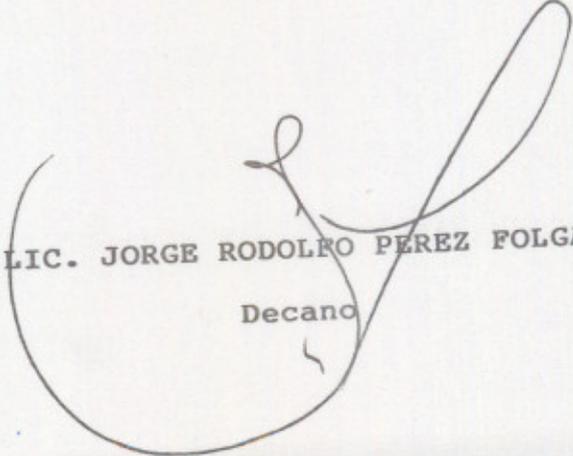
Tesista


MARIA CARLOTA MONROY E., MSc.

Asesora


GERARDO ARROYO, MSc.

Director


LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR

Decano