

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

ACCION TRIPANOSTATICA EN UN MODELO EN RATON DE TRES EXTRACTOS
VEGETALES DE LA FAMILIA EUPHORBICACEAE DE USO MEDICINAL EN GUATEMALA



Informe de Tesis

Presentado Por

Sonia Cecilia González Chamalé

Para optar al título de

Química Bióloga

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Guatemala, octubre de 1995

R
06
F(1688)
C. 3

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

- | | |
|------------|-------------------------------------|
| DECANO | LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR |
| SECRETARIA | LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE |
| VOCAL I | LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ |
| VOCAL II | LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN |
| VOCAL III | LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME |
| VOCAL IV | BR. ANA MARIA RODAS CARDONA |
| VOCAL V | BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA |

DEDICO ESTA TESIS

A: Dios, por ser la luz que ilumina mi camino.

A: Mi patria, Guatemala.

A: La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A: Mis padres: Gil José González y María Olivia Chamalé de González, a quienes debo el logro alcanzado: ahora en la eternidad.

A: Mis hermanos: Claudia, Rosa, Olivia, Verónica, Lucky y Luis.

A: Mis compañeras y amigas: Nancy García, Clodette Rousselin, Ligia Reyes, María Paula De León, Karla Elqueta y Claudia Guzmán.

AGRADECIMIENTOS

- A: Lic. Armando Cáceres, por su asesoría brindada durante la elaboración de esta tesis.
- A: Lic. Federico Nave por su valiosa orientación y ayuda.
- A: Jorge Barahona y Jorge Hernández por su colaboración y ayuda.
- A: El Departamento de Citohistología, en cuyas instalaciones se efectuó parte de los trabajos.
- A: El Departamento de Zoología, área de investigación de la enfermedad de Chagas.
- A: El Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos (FARMAYA).
- A: La Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA).

INDICE

	pág
1. Resumen.....	01
2. Introducción.....	03
3. Antecedentes	
3.1. Familia <u>Euphorbiaceae</u>	05
3.1.1 <u>Acalypha guatemalensis</u>	05
3.1.2 <u>Croton guatemalensis</u>	07
3.1.3 <u>Jatropha curcas</u>	08
3.2 <u>Trypanosoma cruzi</u>	
3.2.1 Morfología en el hospedero.....	12
3.2.2 Ciclo de vida.....	13
3.2.3 Patología.....	14
3.2.4 Epidemiología.....	15
3.2.5 Tratamiento.....	15
3.3 Actividad tripanocida vegetal.....	16
3.4 Metodologías para comprobar actividad <u>in vivo</u>	18
4. Justificación.....	20
5. Objetivos.....	21
6. Hipótesis.....	22
7. Materiales y métodos.....	23
8. Resultados.....	30
9. Discusión de resultados.....	33
10. Conclusiones.....	37
11. Recomendaciones.....	38
12. Referencias.....	39
13. Anexos.....	45

1. RESUMEN

Esta investigación evaluó la actividad tripanostática de tres plantas de uso medicinal en Guatemala pertenecientes a la familia Euphorbiaceae (Acalypha guatemalensis, Croton guatemalensis y Jatropha curcas), las cuales podrían ser utilizadas como tratamiento contra la enfermedad de Chagas. Las plantas fueron colectadas, se secaron a la sombra y se prepararon los extractos con tres solventes (diclorometano, etanol y agua), posteriormente fueron concentrados en rotavapor o liofilizados.

Para evaluar la actividad tripanostática, se usaron ratones albinos como modelo experimental con los cuales se hicieron cinco grupos con cinco ratones cada uno por planta, los cuales fueron inoculados con 1×10^5 tripomastigotes/ml de la cepa ITD/GT/92 MAR-6 de Trypanosoma cruzi, 24 horas después de ser infectados a cada grupo respectivamente se les administró oralmente con sonda orogástrica cada 48 horas, durante 21 días, una dosis de 500 mg/kg de peso de extractos etanólico, diclorometánico y acuoso; alopurinol como control positivo (10 mg/kg de peso) y agua como control negativo. La parasitemia se evaluó a los 7, 14 y 21 días después de ser infectados. La actividad tripanostática se observó por medio de la disminución de tripomastigotes circulantes en la sangre y por comparación con el grupo control negativo el cual tuvo el comportamiento normal de parasitemia.

De las tres plantas estudiadas, los tres extractos de Acalypha guatemalensis tuvieron actividad tripanostática ($p < 0.05$) a dosis de 500 mg/kg de peso; el extracto acuoso de Croton guatemalensis mostró

actividad tripanostática ($p < 0.05$) a dosis de 500 mg/kg de peso; y, Jatropha curcas no mostró actividad tripanostática en ningún extracto.

2. INTRODUCCION

En Guatemala el uso de plantas medicinales como tratamiento de diversas afecciones es muy común, principalmente entre personas de escasos recursos económicos, lo cual se debe en parte al alto costo de los fármacos, dificultándose así su adquisición, por lo que se recurre a la medicina natural. Existe una gran cantidad de enfermedades en las que se emplea como tratamiento diversas plantas medicinales, siendo de nuestro interés las utilizadas para infecciones causadas por protozoos, las que podrían aplicarse al tratamiento de la enfermedad de Chagas.

La enfermedad de Chagas, causada por Trypanosoma cruzi (del cual se estima que al menos 90 millones de personas que habitan los países endémicos se consideran a riesgo de la infección y 16-18 millones están infectadas 1), es un problema de salud debido a factores socioeconómicos y culturales que favorecen el desarrollo de la afección. En la actualidad no existe un medicamento que sea completamente efectivo y de fácil adquisición, es por ello que el uso popular de plantas medicinales para el tratamiento de dicha enfermedad es una alternativa viable, lo cual es propicio para la investigación de este tipo de plantas, permitiendo así comprobar científicamente las propiedades que les son atribuidas. En la presente investigación se utilizaron tres plantas nativas de Guatemala, pertenecientes a la familia Euphorbiaceae, siendo éstas: Acalypha guatemalensis (hierba del cáncer), Croton guatemalensis (copalchi) y Jatropha curcas (piñon), las cuales se utilizan popularmente para el tratamiento de infecciones causadas por

protozoos. El objetivo de la investigación fue demostrar la actividad de dichas plantas en ratones albinos infectados con la cepa ITD/GT/92 MAR-6 de Trypanosoma cruzi, así como comprobar qué disolvente empleado para elaborar los extractos vegetales era el más efectivo.

3. ANTECEDENTES

3.1 Familia Euphorbiaceae

Cuenta con más de 200 géneros y 7,000 especies (2). La mayoría de dichas plantas son distinguidas por su sabia lechosa y la fruta seca con tres celdas. En muchas especies la savia es venenosa o muy irritante; las semillas poseen frecuentemente propiedades purgativas, o en gran cantidad son venenosas (2).

3.1.1 Acalypha guatemalensis Pax & Hoffman

3.1.1.1 Nombre común

Hierba del cáncer (2-5).

3.1.1.2 Origen y distribución

Especie nativa de Guatemala y Honduras; es frecuente encontrarla en matorrales húmedos o secos; algunas veces se encuentra en tierras cultivadas en forma de maleza (2-4).

3.1.1.3 Zona de vida

Bosque seco subtropical, en vegetación densa de 750 a 2,500 msnm (2-5).

3.1.1.4 Departamentos en que se localiza

Baja Verapaz, Jalapa, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Solola, Quiché, Huehuetemango, Quetzaltenango, El Progreso, Zacapa y Chiquimula (3-5).

3.1.1.5 Descripción

Planta monódica, herbácea, perenne, pero algunas veces anual; erecta o ascendente, de un metro de alto: simple o ramificada. Posee hojas con peciolo de 3 centímetros de largo o usualmente más cortos, redondeadas-ovalados o rómbicas-ovaladas, de 4 a 7 centímetros de largo, acuminadas o agudas crenadas, membranosa, de 5 nervaciones (2-5). Las flores tienen espigas principalmente androgineas, terminales y axilares, generalmente numerosas, de 4 a 5 centímetros o más; la porción estaminada de la espiga es corta y densa; las brácteas son pistiladas en el fruto, de 5 milímetros de ancho, de 5 a 7 lóbulos a la mitad, setosas y portando una glándula al final de los pelos, de una a dos flores, los lóbulos lanceolados; ovario hirteloso; estilos con 6 a 10 lacineas, rojo púrpura. Los frutos son una cápsula tuberculada, de 3 milímetros de diámetro. Las semillas son ovoides, lisas, de 2 milímetros de largo (2-5).

3.1.1.6 Usos medicinales

Aplicada como compresas y emplastos para combatir infecciones de la piel y mucosas tales como llagas y granos. Las hojas tostadas y pulverizadas se utilizan para heridas. La decocción de las hojas se utiliza para el tratamiento de los cólicos, dolor de estómago, gastritis (2-5), diarrea y disentería amebiana (4,5).

3.1.1.7 Composición química

Alcaloides no cuaternarios, taninos, antraquinonas, glicósidos cianogenéticos (3-5).

3.1.1.8 Actividad biológica

Tónico y diurético. Se le atribuyen propiedades antisépticas y desinflamantes (4-6).

3.1.2 Croton quatemalensis Lotsy

3.1.2.1 Nombres comunes

Chulche, chul, copalchi, copalchillo, hoja amarga, quina, zicche y copalchin (2,3).

3.1.2.2 Origen y distribución

Nativa de Guatemala, se encuentra en terrenos secos, del sur de México a Honduras. Crece hasta los 1,800 msnm (2,3).

3.1.2.3 Departamentos en que se localiza

Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chiquimula, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltemango, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quiché y Quetzaltenango (2).

3.1.2.4 Descripción

Es un árbol o arbusto delgado, de 8 metros de alto, muy compacto o tupido, con escamas blanquecinas a café. Las hojas son membranosas firmes con peciolo largos, eglandulares; la brizna o tallo es ovalado y la parte ancha triangular ovada, de 7 a 15 centímetros, larga acuminada, en la base es poco cortada o truncada, la otra base es palmada nervada, verde en la cara superior, abajo es espaciada o muy densa, lepidada, blanco, plateada. Las flores son amarillo

pálido, a menudo muy remotas, casi lepidadas, sépalos ovados, agudos; pétalos ovado-lanceolados, ciliados glabrosos; posee cerca de 15 estambres; el ovario es denso lepidado, algunas veces con tubérculos oscuros. Las semillas son capsuladas casi redondas de 8 mm de largo y densamente escamosas (2,3,7).

3.1.2.5 Usos Medicinales

En México y Guatemala la cocción amarga de la corteza es utilizada como remedio para la fiebre intermitente (2,3). La cocción de las hojas secas es tomada como tónico y como tratamiento de inflamaciones y dolores reumáticos (3). Asimismo se utiliza la cocción de la corteza como tratamiento para malaria (3).

3.1.2.6 Composición química

De la corteza se ha extraído un alcaloide llamado copalchidina parecido a la quinina (3). A nivel de las hojas se ha encontrado antraglicósidos, flavonoides, aceites esenciales y valepotriatos (8).

3.1.3 Jatropha curcas L.

3.1.3.1 Nombres comunes

Piñon, tempate, yupur, tempacte, sakilte, sikilte, cupuy, arbol santo, avellana, purgante, barbados nut, coquillo, coquito, cotoncillo, curcas bean, figo de infierno, frailecillo, frailejón, grandó (3,9-11).

3.1.3.2 Origen y distribución

Nativa de Guatemala, crece en matorrales húmedos o secos, en planicies y laderas de colinas. Se localiza en México, de Belice a El Salvador y Panamá, Islas del Caribe y América del Sur. Ampliamente cultivada hasta los 1,500 msnm (2,3,6,7,10,12).

3.1.3.3 Zona de vida

Bosque seco subtropical, monte espinoso subtropical (3,7,9,13).

3.1.1.3.4 Departamentos en que se localiza

El Progreso, Zacapa, Chiquimula, Peten, Alta Verapaz, Izabal, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Sacatepéquez, Retalhuleu, San Marcos, Huehuetenango, y probablemente en los otros departamentos de la República (2,6,7).

3.1.3.5 Descripción

Es un arbusto con la corteza pálida y casi lisa. Las hojas son largamente pecioladas, los peciolo son tan largos como los limbos, éstos redondeado-ovalados, principalmente de 7 a 16 centímetros de 10 largo y casi igual de ancho abiertamente cortados en la base o algunas veces truncados, fuertemente lobulados de 3 a 5 o angulados, no dentados, palmados, de 5 a 7 nervaciones, casi glabros, pero más o menos pilosas las nervaduras del envés, casi cerca de la base. Las flores se encuentran en cimas pequeñas, densas, densamente pedunculadas, las brácteas lanceoladas o lineares, los sépalos son ovalado-elípticos, de 4 milímetros de largo, glabros, sus pétalos son blanquecinos, casi igual a los sépalos, oblongo-obovalados casi

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 Centro de Estudios Científicos

libres, densamente pilosos internamente, en las flores estaminadas el doble de largo, tiene 8 estambres, los filamentos externos libres, los internos, algunos connados; el ovario es glabro. Los frutos son una cápsula de 2.5 a 4 centímetros de largo, de 2 a 3 celdas elipsoides. Las semillas tienen cerca de 2 centímetros de largo a un centímetro de ancho, pálidas oblongo elipsoides con conspicuas líneas negras (6,7,9,14,15).

3.1.3.6 Usos medicinales

Las hojas maceradas con aceite de ricino se usan para apresurar la supuración, con sal se utiliza para el dolor abdominal y gases. La cocción se utiliza para transtornos hepáticos; también se aplican en los senos de las mujeres que están lactando para incrementar el flujo de leche. Se usa para la fiebre, enfermedades venéreas, úlceras, ictericia, artritis, estreñimiento, diarrea y disentería. El látex se emplea para candidosis bucal, asma, heridas, dolor de dientes y caries dental (3,6,7,9-11). Las raíces se emplean para la disentería. Las hojas y las flores se utilizan para el paludismo. Las semillas y las hojas se usan para tratar parásitos intestinales (3,6).

3.1.3.7 Otros Usos

Las semillas tostadas son comestibles pero en pequeña cantidad (6,9,16). De la semilla se extrae aceite el que se emplea para hacer jabón (6,7,9), para el alumbrado (2,3,6,9,11) y como lubricante (7,9). El arbusto es utilizado para cercas vivas y para sombra de algunos animales domésticos. La sabia puede ser utilizada como tinta

para escribir (6,7).

3.1.3.8 Composición química

El látex contiene 10 por ciento de taninos. La corteza contiene 37 por ciento de taninos. Las semillas tienen toxoalbumina y toxoalbumina cursina más abundante en el embrión. El aceite posee 31 a 37 por ciento de ésteres de ácidos palmítico, esteárico y oléico. Las hojas contienen fitosterol, glucósidos, cianogenéticos y taninos. La raíz está compuesta por un 7 a 18 por ciento de resina rica en glucósidos, metil esculetina, ácido palmítico, ácido esteárico, goma y azúcares (6,7,10).

3.1.3.9 Actividad biológica

Los extractos clorofórmico y etanólico al 95 por ciento de las partes aéreas de la planta por vía intraperitoneal en el ratón, muestran una actividad antitumoral a dosis de 12.5 y 25 mg/kg de peso (10). El extracto hidroetanólico (1:1) administrado a dosis de 0.25 mg/kg de peso por vía intraperitoneal en el ratón, potencializa la acción de los barbitúricos y muestra una actividad diurética. El extracto metanólico (al 70 por ciento) de la raíz administrado intraperitonealmente en el ratón, muestra una actividad anticonvulsiva (10).

El fruto por vía oral en la rata, muestra un efecto antifertilidad. El extracto acuoso es moluscocida, in vitro y mata 100 por ciento de los ratones tratados por intubación gástrica a dosis de 10 g/kg/día durante tres días (10).

El extracto etanólico de la semilla desgrasado es citotóxico, in

vitro, sobre cepas de células cancerosas (LLP388) (3,10). El extracto metanólico, muestra una actividad ionotrópica y cronotrópica negativa en el corazón del cobayo. El aceite sacado de la semilla administrado por vía subcutánea en ratón es letal a la dosis de 1 ml/animal. El extracto acetónico de aceite de la semilla, administrado en el oído del ratón, muestra una neta actividad irritante (10).

Las hojas y los vástagos tienen una actividad contra la leucemia linfocítica P-388 (3,6).

3.1.3.10 Toxicidad

La semilla cruda causa violentos vómitos, diarrea, dolor abdominal y espasmos musculares. Asadas pueden producir inflamación en la boca. La sabia es irritante a la piel y es tóxica cuando es ingerida.

La corteza, fruto, hoja, raíz y madera se ha reportado que contienen ácido cianhídrico (3,7,13).

3.2 Trypanosoma cruzi

3.2.1 Morfología en el hospedero

En sangre Trypanosoma cruzi es un parásito flagelado, mide de 15 a 20 μ de largo, poco grueso o delgado, con el extremo posterior terminado en punta; en frote teñido con Giemsa, aparece como "U", "S" o media luna, con un flagelo libre que mide el tercio de la longitud total, el citoplasma es granuloso, posee núcleo central, el cinetoplasto es muy largo y se observa extendido alrededor del cuerpo

del parásito (17-20).

En las células tiene forma redondeada, sin flagelo, se conoce como amastigote, localizándose de preferencia en el tejido nervioso y muscular, en especial en el miocardio (17-20).

3.2.2 Ciclo de vida

El vector del Trypanosoma cruzi es un insecto hematófago perteneciente a la familia de los Redúvidos, orden Hemiptera, de los cuales se conocen más de 100 especies, con amplia distribución en el continente americano (17-22). En Guatemala, los transmisores son Triatoma dimidiata y Rhodnius prolixus (18).

Los Redúvidos transmisores se infectan al picar al hombre o animales reservorios infectados, pueden hacerlo en estado de larva, ninfa o imago; los tripomastigotes ingeridos se convierten en epimastigotes cortos en el estómago del insecto, los cuales se multiplican por división binaria y evolucionan a formas largas que se encuentran en la parte posterior del intestino medio los cuales constituyen el stock de parásitos que mantienen la infección en el vector. Después de ocho a diez días aparecen en el recto, el cual es básicamente el sitio para la diferenciación de epimastigote a tripomastigote y para la acumulación de estadios infectivos, tripomastigotes metacíclicos que salen con las heces y son infectantes para el hombre y animales reservorios, cuando se frota en la picadura del insecto o en cualquier lesión de la piel (17-22).

Los tripomastigotes infectantes procedentes de la chinche penetran con actividad en las células del hospedero mamífero transformándose en amastigotes redondos, que realizan ciclos

repetidos de división, hasta que los parásitos llenan todo el citoplasma de la célula. Después los amastigotes se transforman en tripomastigotes y al cabo de cinco días se rompe la célula infectada, con lo que se liberan los tripomastigotes activos. Algunos invaden nuevas células para continuar con el proceso de multiplicación intracelular y otros llegan a la corriente sanguínea, donde circulan y pueden invadir y multiplicarse en una gran variedad de células, pero principalmente las del corazón, el esqueleto y otras fibras musculares (1,17,18,23). Los parásitos en la sangre también pueden transmitirse mediante transfusiones y por vía transplacentaria (17-23).

3.2.3 Patología

Al principio, el parásito se multiplica en las células del tejido subcutáneo en el sitio de la inoculación y da lugar a una lesión local llamada chagoma, después de romper los parásitos la célula ocurre una reacción inflamatoria por lo que se produce edema local. En las etapas iniciales de la infección, se descubren con facilidad los parásitos intracelulares en los tejidos afectados, y también se observan tripomastigotes en la sangre. Al volverse crónica, los parásitos intracelulares disminuyen en cantidad y ya no se presentan tripomastigotes en la sangre periférica, con frecuencia es imposible demostrar microorganismos intracelulares en el corazón y otros tejidos (1,17,18,23).

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas aguda, comprenden un periodo de incubación que dura varias semanas con fiebre y linfadenopatía generalizada. Si el sitio de entrada es la

región superior de la cara o el ojo, se presenta conjuntivitis unilateral y edema orbitario, que en conjunto reciben el nombre de signo de Romaña. La enfermedad aguda suele desaparecer espontáneamente aunque puede haber afección del corazón con miocarditis aguda o invasión del sistema nervioso central con meningoencefalitis consecuente (1,17,18,23).

Las pruebas más comunes de enfermedad de Chagas son las secuelas cardíacas y gastrointestinales, que ocurren muchos años después de la infección inicial, la cardiopatía o los crecimientos de esófago y colon pueden presentarse juntos o por separado (1,17,18,23).

3.2.4 Epidemiología

La enfermedad de Chagas es frecuente desde el sur de Estados Unidos, México, Centroamérica y Sudamérica (1,17, 18).

La tripanosomiasis americana es una clara infección zoonótica. En Guatemala, los transmisores son Triatoma dimidiata y Rhodnius prolixus distribuidos en toda la república exceptuando Totonicapán. Estos habitan en viviendas de construcción precaria; de adobe o de palo pique, en los techos de palma, en consecuencia, se establece un ciclo intradomiciliario de transmisión, en cuyo caso las personas son el principal reservorio de la infección (18).

3.2.5 Tratamiento

Los estadios intracelulares son resistentes a la acción de drogas en general, y en estudios alrededor de 65 años no ha sido descubierta una droga específica para la enfermedad. El tratamiento recomendado para pacientes con enfermedad de Chagas aguda es

nifurtimox o beznidazole los cuales producen neuropatías, desórdenes psiquiátricos, anorexia y pérdida de peso, así como efectos tóxicos en el sistema nervioso, digestivo, hematopoyético y tegumentario (23-26). Otra droga utilizada en pacientes con enfermedad de Chagas crónica en Argentina, Bolivia y Brasil es el alopurinol el cual es menos tóxico que el nifurtimox y beznidazole, se ha utilizado en pacientes con enfermedad de Chagas crónica dando resultados favorables (26). Experimentalmente se ha utilizado el compuesto bis-triazole (ICI 195,739) el cual se cree que interfiere con la división celular de Trypanosoma cruzi. El benzyaminoimidazole carboxamida suprime los niveles de Trypanosoma cruzi en el ratón (26).

3.3 Actividad Tripanocida Vegetal

Después de una amplia revisión bibliográfica se puede afirmar que se cuentan con pocos estudios de actividad tripanocida vegetal que empleen cepas de Trypanosoma cruzi por lo que también se incluirán estudios que utilizan cepas de Trypanosoma brucei brucei para establecer la metodología a usar. Entre estos estudios se encuentran:

Comprobación de la actividad tripanocida de Morinda lucida en ratón. Esta planta se emplea en el tratamiento de la malaria para comprobar su efecto se obtuvo el extracto a partir de hojas secas con metanol al 50 por ciento. Los ratones fueron inoculados con 1×10^6 tripomastigotes/ml de Trypanosoma brucei brucei intraperitonealmente. El extracto se les administró por vía intraperitoneal y la parasitemia se evaluó después de 24 horas de haber iniciado el tratamiento.

El extracto de las hojas produce un significativo efecto tripanocida en el ratón, aunque no elimina completamente la parasitemia. La supresión de la parasitemia es dosis dependiente teniendo un máximo efecto con 1000 mg/kg de peso. El mejor efecto tripanocida se observó cuando se administró el extracto simultáneamente con la inoculación del tripanosoma (27).

Otro estudio, se realizó con hojas de Acalypha hispida. Para ello se preparó un extracto acuoso. Se utilizaron ratas albinas blancas de 84-100 g de peso. Los animales fueron infectados con 1×10^3 tripomastigotes/ml de Trypanosoma brucei por vía intraperitoneal; el extracto se les administró por vía intramuscular y venosa. La parasitemia fue evaluada diariamente por 7 días a partir de las 24 horas después de iniciado el tratamiento. El extracto presentó actividad tripanocida en todas las dosis y rutas de administración, pero se observó un mejor efecto cuando se administró vía intramuscular o intravenosa. La mejor dosis fue de 50 mg/kg de extracto con un máximo de actividad y un mínimo de toxicidad (28).

En un estudio realizado para comprobar la actividad tripanocida in vitro de extractos de Vernonia sp. y Eupatorium sp. contra las formas sanguíneas de la cepa "Y" de Trypanosoma cruzi. Se evaluaron aleatoriamente 700 extractos acuosos a la dosis de 250 µg/ml los cuales se colocaron en microplacas y se les agregó 2×10^6 tripomastigotes/ml. Como control positivo se utilizó 250 µg/ml de violeta de genciana. La actividad tripanocida se evaluó después de 24 horas por medio de una observación en fresco, inoculación en hemocultivos y ratones. Los extractos presentaron actividad después de 24 horas de contacto los tripomastigotes de la cepa "Y" de

Trypanosoma cruzi en la observación en fresco, sin embargo los ratones presentaron parasitemia después de 7 días de infectados y los hemocultivos también fueron positivos (29).

3.4 Metodología utilizada para comprobar la actividad tripanocida vegetal in vivo

Según la técnica de Okanla et al., se utilizan 48 ratas albinas blancas de 84-100 g de peso, empleándose como control solución salina. Todos los animales son infectados con 1×10^3 tripomastigotes/ml de Trypanosoma brucei. El extracto se administra a una dosis de 50 mg/kg de peso y 150 mg/kg de peso intramuscular o intravenoso 24 horas después de haber sido infectados. La parasitemia se evalúa por 7 días, diariamente, a partir de las 24 horas de iniciado el tratamiento (28).

Otra técnica es la descrita por Asuzu, en la cual se utilizan ratones albinos de 20-30 g de peso. El extracto se administra intraperitonealmente a las dosis de 200, 400, 800, y 1000 mg/kg de peso, minutos después de ser infectados. Todos los animales se infectan con 1×10^6 tripomastigotes/ml de Trypanosoma brucei brucei por vía intraperitoneal. Se utiliza berenil (tripanocida muy tóxico) como control positivo. La parasitemia se evalúa a las 24 horas después de administrar el tratamiento, diariamente por siete días (27).

Según la técnica de Filardi & Brener, se utilizan ratones albinos de 20-30 g de peso. Los cuales se infectan con 1×10^5 tripomastigotes/ml por vía intraperitoneal. la cepa que se utiliza es "CL", "MR", "Y", "Colombiana" y "VL-10" de Trypanosoma cruzi. A los animales se les administra oralmente una dosis de 500 mg/kg de droga pura (ketoconazole). El grupo control esta constituido por ratones infectados pero no tratados. La parasitemia se evalúa a las 2, 4, 6 y 8 horas después de administrada la droga (30).

Por último existe otra metodología, la utilizada por MacCabe, et al. la cual utiliza ratones suizos de 20-22 g de peso. Dichos ratones se inoculan con 1×10^5 tripomastigotes/ml de la cepa "Y" de Trypanosoma cruzi por vía intraperitoneal. Se les administra una dosis de droga de 60, 30, y 15 mg/kg por vía oral durante siete días, todos los días dos veces al día. El grupo control son ratones infectados pero no tratados. La parasitemia se evalúa a las 24 horas después de administrado el tratamiento, por siete días (31).

4. JUSTIFICACION

En Guatemala, la mayor parte de la población ignora la existencia de la enfermedad de Chagas; se desconoce exactamente el número de personas infectadas, pero de un total de 3,972 sueros provenientes del país en 1987, se demostró una prevalencia del 8.5%; el tratamiento de dicha enfermedad es difícil debido a la poca disponibilidad de medicamentos, siendo éstos poco efectivos y de alta toxicidad.

La familia Euphorbiaceae cuenta con una gran variedad de géneros y especies de plantas que se caracterizan por sus múltiples compuestos químicos, razón por la cual, es de nuestro interés demostrar las propiedades tripanocidas que éstas puedan poseer.

El uso de plantas medicinales en nuestro país es muy frecuente y es por ello que se hace necesario validar las propiedades que se les atribuyen. Como consecuencia de estudios colaborativos entre el Departamento de Cito histología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA), se tiene establecido un modelo experimental para evaluar in vivo la actividad tripanostática, el que se adaptará para evaluar productos naturales, por lo que de encontrar actividad tripanostática vegetal se podría proponer una alternativa efectiva de poca toxicidad y fácil adquisición para el tratamiento de enfermedades causadas por protozoos, principalmente la enfermedad de Chagas.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Demostrar la actividad tripanostática in vivo de plantas de uso medicinal en Guatemala.

5.2 ESPECIFICOS

5.2.1 Establecer una metodología para evaluar la actividad tripanostática in vivo de plantas medicinales.

5.2.2 Demostrar la actividad tripanostática in vivo de Acalypha guatemalensis, Croton guatemalensis, y Jatropha curcas.

5.2.3 Establecer cuál es el disolvente que extrae la mayor cantidad del principio responsable de la actividad tripanostática.

6. HIPOTESIS

Una de las tres plantas de la familia Euphorbiaceae empleada tiene actividad tripanostática in vivo contra la cepa ITD/GT/92 MAR-6 de Trypanosoma cruzi.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de Trabajo:

El universo de trabajo estuvo constituido por plantas de la familia Euphorbiaceae de uso popular en Guatemala para el tratamiento de infecciones.

De 15 géneros de la familia Euphorbiaceae que se han reportado que se utilizan en Mesoamérica para el tratamiento de infecciones parasitaria, se escogieron tres especies nativas de Guatemala siendo éstas Acalypha guatemalensis, Croton guatemalensis y Jatropha curcas (33). Estas tres plantas fueron escogidas por su amplio uso popular, disponibilidad en el momento del estudio, información bibliográfica y distribución en el país. Tres extractos de cada planta se retaron contra la cepa ITD/GT/92 MAR-6 de Trypanosoma cruzi.

7.2 Recursos:

7.2.1 Humanos:

Tesista: Br. Sonia Cecilia González Cham

Asesor: Lic. Armando Cáceres

7.2.2 Físicos

Laboratorio FARMAYA, Departamento de Citohistología, Departamento de Farmacología y Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

7.2.3 Materiales:

7.2.3.1 Equipo:

Liofilizador (Labconco)

Balanza analítica (Mettler)

Desecadora (Nucelite)

Balanza para animales de laboratorio (Ohaus)

Rotavapor (Buchi)

Microscopio (Olympus)

7.2.3.2 Materiales:

200 g de hojas de Acalypha guatemalensis

300 g de corteza de Croton guatemalensis

200 g de hojas de Jatropha curcas

Jeringas de 1 cc y de 5 cc

Algodón

Tijeras

Jaulas para ratones

Alimento para ratón

Aserrín de madera

Ratones albinos suizos de 18-20 gramos de peso

Sonda orogástrica para ratón

Contador de células

Cámara de Neubauer

Portaobjetos

Cubreobjetos 22 X 22 mm

Guantes descartables No. 6½

Percoladores

Papel filtro

Varillas de agitación

Frascos oscuros de vidrio con capacidad de 1000 ml.

Soporte de metal

Anillos de metal

Erlenmeyer con tapón de rosca de 100 y 250 ml.

Beakers de 250 y 500 ml.

Probeta de 1000 ml. de capacidad

Cajas de Petri tipo pyrex de 15 por 100 mm.

7.2.3 Reactivos:

Diclorometano absoluto

Etanol al 85%

Agua destilada estéril

Solución de cloruro de sodio al 0.85%

Cloroformo

Heparina

Alopurinol

7.3 Procedimiento

7.3.1 Recolección de las plantas

Las plantas fueron recolectadas por proveedores del Laboratorio Farmaya en los siguientes departamentos: Acalypha quatemalensis en Guatemala, Jatropha curcas en Suchitepéquez y Croton quatemalensis en Escuintla (2). Luego se herborizaron y se les hizo una determinación

botánica. El materia se lavó, se secó a la sombra, se pulverizó y se almacenó en bolsas plásticas hasta el momento de su análisis (33).

7.3.2 Preparación de los extractos

Se pesaron 100 g de materia seca vegetal, se introdujeron en una botella invertida sin fondo (percolador) y se le agregaron 500 ml de diclorometano, a las 24 horas se eluyó el disolvente y se colocó en frascos oscuros de vidrio. Al material que quedó en la botella se le agregó nuevamente diclorometano y se dejó reposar por otras 24 horas, después de las cuales se eluyó el disolvente y se almacenó con el anterior. Por último, se le agregó al material que quedó en el percolador 500 ml de etanol al 85 por ciento tres veces, una cada 24 horas, luego de las cuales se continuó con el procedimiento anterior (34).

El eluyente que contenía el extracto con diclorometano se colocó en el balón del rotavapor y se puso a rotar en el baño de agua, el cual no debía tener una temperatura mayor de 40°C, este procedimiento se realizó hasta que se destilara todo el solvente y quedara únicamente la materia vegetal, el cual se colocó en una caja de petri previamente tarada y se puso en la desecadora para eliminar los residuos de disolvente que pudieron haber quedado. Con el extracto etanólico se realizó el mismo procedimiento, con la diferencia que el baño de agua del rotavapor se mantuvo a una temperatura de 45°C (34).

Para el extracto acuoso se pesaron 10 g de materia vegetal y se le agregaron 90 ml de agua a 100°C, se dejó reposar por dos horas después de las cuales se filtró tres veces y se colocó 100 ml de la

infusión en un Erlenmeyer de 250 ml de capacidad con tapón de rosca. El extracto ya frío, se puso a congelar a -40°C por 24 horas. luego se colocó en la cámara liofilizante y después de 48 horas se sacó el extracto listo para ser almacenado (34).

7.3.3 Mantenimiento de cepas

Se utilizó la cepa ITD/GT/92 MAR-6 aislada de Triatoma nitida proveniente de la aldea San Cristóbal, Guatemala, la cual fue caracterizada por Rodas en 1992. Esta cepa se caracteriza por presentar máxima parasitemia en el día 21 con un conteo de 112,020 tripomastigotes/ml y no presenta mortalidad en los ratones (35).

Se inocularon ratones albinos con 1×10^5 tripomastigotes/ml de la cepa ITD/GT/92 MAR-6 de Trypanosoma cruzi por vía intraperitoneal y al día 21 de su inoculación se obtuvo sangre por punción cardíaca y se realizaron recuentos para obtener la concentración de 1×10^5 tripomastigotes/ml (23-25).

7.3.4 Tamizaje in vivo

Se hicieron cinco grupos, de cinco ratones albinos cada uno, por planta y se les administró extracto etanólico, diclorometánico y acuoso, alopurinol y agua, respectivamente (36).

Se inocularon por vía intraperitoneal 1×10^5 tripomastigotes/ml de la cepa de Trypanosoma cruzi a 25 ratones albinos por planta y 24 horas después de ser infectados se les administró oralmente con sonda orogástrica una dosis de 500 mg/kg de peso de extracto etanólico, diclorometánico y acuoso, diariamente durante 21 días. Se utilizaron como control positivo alopurinol a

una dosis de 10 mg/kg y el grupo control negativo fueron ratones infectados y tratados con agua. La parasitemia se evaluó obteniendo 5 μ l de sangre por medio de corte de cola a cada ratón, el recuento de parásitos se hizo por observación microscópica entre porta y cubreobjetos a los 7, 14 y 21 días después de haber iniciado el tratamiento (30-31).

La actividad tripanostática se evaluó por medio de la disminución de tripomastigotes circulantes en la sangre y por comparación con el grupo control negativo el cual evaluó el comportamiento de la curva normal de parasitemia (36).

7.4 Diseño Experimental:

El diseño experimental se realizó por medio de bloques completos al azar con 5 tratamientos por planta, los bloques fueron inoculaciones en días diferentes.

Los tratamientos fueron: agua destilada como control negativo, alopurinol como control positivo a una dosis de 500 mg/kg, extracto diclorometánico, extracto etanólico y extracto acuoso los cuales se administraron a la misma dosis que el control positivo.

El número de repeticiones fue de 5 por tratamiento con un nivel $\alpha = 0.05$ y un nivel $\beta = 0.1$, con un límite de error igual a dos desviaciones estándar.

Para el análisis estadístico, se trabajo con el área bajo la curva de parasitemia vrs. tiempo, por medio de un análisis de varianza de dos vías para ver si existía o no diferencia entre los tratamientos y al existir ésta se hicieron comparaciones múltiples

del alopurinol y los tres extractos contra el control negativo por medio de la prueba de Dunnett.

8. RESULTADOS

Al evaluarse únicamente la disminución de la parasitemia, los ensayos realizados representan el efecto tripanostático.

8.1 Actividad tripanostática de Acalypha guatemalensis

En la Gráfica 1 se puede observar el comportamiento a través del tiempo de las curvas de parasitemia de Trypanosoma cruzi de los tratamientos y controles. Hasta el día 14 las curvas tuvieron un comportamiento similar, observándose el pico máximo a los 21 días en donde existió la mayor diferencia entre ellas, el grupo control negativo mostró 34,670 tripomastigotes/ μ l, el alopurinol (control positivo) 2,335 tripomastigotes/ μ l, el extracto diclorometánico 13,770 tripomastigotes/ μ l, el extracto etanólico 7,320 tripomastigotes/ μ l y el extracto acuoso 13,970 tripomastigotes/ μ l (Tabla 1).

Al realizar el análisis de varianza se comprobó que existe diferencia significativa ($p < 0.05$), por lo que al menos un tratamiento es diferente a los demás. Se hicieron comparaciones múltiples demostrándose que existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), entre el control positivo y control negativo, entre el tratamiento diclorometánico y control negativo, entre el tratamiento etanólico y control negativo y entre el tratamiento acuoso y control negativo (Tabla 2) (Gráfica 2).

8.2 Actividad tripanostática de Croton guatemalensis

En la Gráfica 3 se pueden observar las curvas de parasitemia de Trypanosoma cruzi de los tres extractos, del control negativo (agua) y del control positivo (alopurinol). A los 7 y 14 días éstas se comportan de forma similar, se observa la mayor diferencia entre ellas a los 21 días en donde el grupo control negativo mostró 40,100 tripomastigotes/ μ l, el grupo control positivo 18,100 tripomastigotes/ μ l, extracto diclorometánico 32,480 tripomastigotes/ μ l, extracto etanólico 37,466 tripomastigotes/ μ l y extracto acuoso 10,560 tripomastigotes/ μ l (Tabla 3).

A través de la prueba de análisis de varianza se demostró que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), por lo que al menos un grupo es diferente a los demás. Posteriormente, se realizaron comparaciones múltiples, con las cuales se comprobó que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), entre el control positivo y negativo, extracto acuoso y control negativo. Por otro lado, no se comprobó que existiera alguna diferencia significativa entre el extracto etanólico y control negativo y entre el extracto diclorometánico y control negativo (Tabla 4). En la Gráfica 4 se puede visualizar las diferencias entre los tratamientos y la variabilidad que existió entre los datos.

8.3 Actividad tripanostática de Jatropha curcas

En la Gráfica 5 se puede observar las curvas de parasitemia de Trypanosoma cruzi del grupo control negativo y de los grupos de experimentación. Las curvas de parasitemia se comportan de manera similar durante los 7, 14 y 21 días; el pico máximo se observa a los

21 días, en donde el grupo control negativo mostró 3,150 tripomastigotes/ μ l, extracto diclorometánico 4,160 tripomastigotes/ μ l, extracto etanólico 11,200 tripomastigotes/ μ l y extracto acuoso 11,280 tripomastigotes/ μ l (Tabla 5).

A estos datos se les realizó un análisis de varianza el cual mostró que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos y control negativo por lo que se repitió el ensayo (Tabla 6) (Gráfica 6).

En el nuevo ensayo las curvas de parasitemia se comportaron de manera similar a los 7 y 14 días mostrando diferencia, a los 21 días en donde el control negativo mostró 7,320 tripomastigotes/ μ l, alopurinol 480 tripomastigotes/ μ l, extracto diclorometánico 6,600 tripomastigotes/ μ l, extracto etanólico 5,200 tripomastigotes/ μ l y extracto acuoso 5,100 tripomastigotes/ μ l (Gráfica 7)(Tabla 7).

Se hizo el análisis de varianza en donde se comprobó que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), por lo que al menos un tratamiento es diferente a los demás. Con comparaciones múltiples se comprobó que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), entre el control positivo y control negativo. No se comprobó que existiera alguna diferencia entre el extracto diclorometánico y control negativo, el extracto etanólico y control negativo y el extracto acuoso y control negativo (Tabla 8) (Gráfica 8).

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Se evaluó la acción antiprotozoaria de tres plantas de la familia Euphorbiaceae stilizadas por la población guatemalteca para el tratamiento de enfermedades causadas por protozoos. Se estudió específicamente la acción tripanostática in vivo para lo que se emplearon ratones como modelo experimental. Para ésto se infectaron 5 grupos de ratones de 5 ratones cada uno para cada planta, al grupo control negativo se le administró agua, al grupo control positivo se le administró 10 mg/kg de peso de alopurinol y a los grupos de experimentación 500 mg/kg de peso de extracto diclorometánico, extracto etanólico y extracto acuoso respectivamente. La parasitemia fue evaluada a los 7, 14 y 21 días posteriores a la infección. La actividad tripanostática se evaluó por medio de la disminución de tripomastigotes circulantes en la sangre y por comparación con el grupo control negativo el cual tuvo el comportamiento normal de parasitemia.

Acalypha guatemalensis aplicada como compresas y emplastos se usa para combatir infecciones de la piel y mucosas tales como llagas y granos. Las hojas tostadas y pulverizadas se utilizan para heridas. La cocción de las hojas se utiliza para los cólicos, dolor de estómago y gastritis (2,3,6,7). También se utiliza para el tratamiento de diarrea y disentería amebiana, empleando la decocción de las hojas (6,7).

Esta planta mostró ser efectiva contra la cepa de Trypanosoma

cruzi en todos los extractos evaluados a la dosis de 500 mg/kg de peso, observándose mayor actividad en el extracto etanólico.

En México y Guatemala la decocción amarga de la corteza de Croton guatemalensis es utilizada como remedio para la fiebre intermitente (2,3). La decocción de las hojas secas es tomada como tónico y como tratamiento de inflamaciones y dolores reumáticos (3). Asimismo se utiliza la coccción de la corteza como tratamiento para malaria (3).

En estudios de actividad in vitro contra la cepa K173 de Plasmodium berghei el extracto acuoso de la corteza mostró acción esquizontocida (37).

En este estudio, el extracto acuoso mostró actividad contra Trypanosoma cruzi, la dosis empleada fue de 500 mg/kg de peso y como se puede observar en la Gráfica 2, la caja de Tukey de dicho extracto no se traslapa con el control negativo.

Las hojas de Jatropha curcas maceradas con aceite de ricino se usan para apresurar la supuración, con sal se utiliza para el dolor abdominal y gases. La decocción se utiliza para transtornos hepáticos; también se aplican en los senos de las mujeres que están lactando para incrementar el flujo de leche. Se usa para la fiebre, enfermedades venéreas, úlceras, ictericia, artritis, estreñimiento, diarrea y disenteria. El látex se emplea para candidosis bucal, asma, heridas, dolor de dientes y caries dental (3,6,7,9-11). Las raíces se emplean para la disenteria. Las hojas y las flores se utilizan para el paludismo. Las semillas y las hojas se usan para

deberán ser estudiadas microbiológica, farmacológica y toxicológicamente por procedimientos in vitro e in vivo, para validar científicamente su uso tradicional en Guatemala. por otro lado es necesario realizar fraccionamientos para elucidar la estructura del principio activo responsable de la actividad, estudiar la farmacodinámica de la molécula. incrementándose así las posibilidades de esta alternativa para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

INSTITUTO DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

10. CONCLUSIONES

10.1 El modelo murino establecido mostró ser efectivo para evaluar la actividad tripanostática in vivo y fue validado estadísticamente.

10.2 Todos los extractos de Acalypha guatemalensis mostraron marcado efecto tripanostático, teniendo mayor actividad el extracto etanólico.

10.3 El extracto acuoso de Croton guatemalensis tiene actividad tripanostática in vivo a una dosis de 500 mg/kg de peso.

10.4 Jatropha curcas no tiene ningún efecto sobre Trypanosoma cruzi.

11. RECOMENDACIONES

11.1 Acondicionar las instalaciones para un bioterio en el que se puedan mantener animales infectados en condiciones adecuadas de trabajo.

11.2 Confirmar los extractos de las plantas que mostraron actividad contra la cepa estudiada, determinar la actividad contra otras cepas de Trypanosoma cruzi y medir la concentración inhibitoria mínima.

11.3 Efectuar estudios de toxicidad con los extractos vegetales que presentaron actividad.

11.4 Comprobar mediante estudios in vitro o in vivo otras acciones farmacológicas que puedan poseer las plantas estudiadas y que comprueben científicamente su uso popular.

11.5 Realizar estudios farmacognósticos de los extracto de las plantas que mostraron actividad para aislar el principio activo e identificar la estructura química responsable de la actividad.

12. REFERENCIAS

- 12.1 Organización Mundial de la Salud. Control de la enfermedad de Chagas. Bol Epid OPS 1991; 811:5-9.
- 12.2 Stanley PC, Steyermark J. Flora of Guatemala. USA: Filadelfia: Botany, 1976. XXIV + 390 p.
- 12.3 Morton JF. Atlas of medicinal plants of middle America: Bahamas to Yucatan. USA: Charles Thomas, 1981. 1492 p.
- 12.4 Cáceres A, Samayoa B. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. DIGI-USAC, Cuadernos de Investigación No. 6-89, Guatemala 1989. 139 p.
- 12.5 Ronquillo FA, et al. Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala. Guatemala: Dirección General de Investigación USAC, 1988. 249 p.
- 12.6 Martínez M. Plantas utiles de la flora mexicana. 5ta. ed. México: Editorial Botas, 1969. 621 p.

- 12.7 Grijalva EB. Contribución al estudio farmacológico y toxicológico de Croton guatemalensis como hipoglucemiante. Guatemala: USAC, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1992. 46 p.
- 12.8 Méndez EJ. Estandarización de métodos por cromatografía en capa fina para la identificación de plantas antimaláricas comunmente usadas en Guatemala. Guatemala: USAC, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1992. 46 p.
- 12.9 Martínez M. Las plantas medicinales de México. 5ta. ed. México: Editorial Botas, 1969. 656 p.
- 12.10 Weniger B, Robineau L. Investigaciones científicas y uso popular de plantas medicinales en el Caribe (seminario) Tramil 2. Santo Domingo: Universidad de Santo Domingo, 1986. 256 p.
- 12.11 Weniger B, Robineau L. Elementos para una farmacopea caribeña (seminario) Tramil 3. Cuba: Universidad de Cuba, 1988. 250 p.
- 12.12 Duke JA. Handbook of medicinal herbs. USA: University of Texas, 1984. 982 p.
- 12.13 Dieseldorff E. Las plantas medicinales del Departamento de Alta Verapaz. An. Soc. Geog. Hist. Guatemala, 1977. 52 p.

- 12.14 Alcorn JB. Huastec mayan ethnobotany. USA: University of Texas, 1984. IV + 982 p.
- 12.15 Orellana S. Indian Medicine in Highland Guatemala. México: Ed. Albuquerque, 1987. 308 p.
- 12.16 Mendieta RM, Amos A. Plantas medicinales del Estado de Yucatán. México: Ed. Continental, 1981. 428 p.
- 12.17 Brown H. Parasitología clínica. 5ta. ed. México: Ed. Interamericana, 1985. 369 p.
- 12.18 Aguilar F. Parasitología médica. Guatemala: Ed. Delgado, 1987. 363 p.
- 12.19 Lennette E. et al. Manual of clinical microbiology. 4ta. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1985. 1149 p.
- 12.20 Brener Z. Significance of morphologic variation of bloodstream Forms. New Apro Am Tryp Res 1975; 318: 127-131.
- 12.21 Brener Z. Life cycle of Trypanosoma cruzi in the vector. New Apro Am Tryp Res 1975; 318: 3-8.
- 12.22 Zeledon R. Host-parasite relationships in the vector. New Apro Am Tryp Res 1975; 318: 9-14.

- 12.23 Andreoli C, et al. Compendio de medicina interna. 2da. ed. México: Interamericana, 1991. 948 p.
- 12.24 Cancado R, et al. Clinical Trials in Chagas Disease. New Apro Am Tryp Res 1975; 318: 15-21.
- 12.25 Gutteridge W. Experimental chemotherapy of Chagas disease. New Apro Am Tryp Res 1975; 318: 255-265.
- 12.26 Werbonetz K, et al. Treatment of leishmaniasis and trypanosomiasis. Curr Scin 1993; 5:840-848
- 12.27 Asuzu I, et al. Effects of Morinda lucida leaf extract on Trypanosoma brucei brucei infection in mice. Ethnoph 1990; 30:307-313.
- 12.28 Okanla O, et al. Trypanocidal effect of an aqueous extract of Acalypha hispida leaves. J Ethnoph 1990; 29:233-337.
- 12.29 Cardoso J, et al. Atividade in vitro dos extratos das plantas Vernonia sp. e Eupaterium sp. contra formas sanguíneas da cepa "Y" do Trypanosoma cruzi. Mem Inst Oswaldo Cruz 1987; 82: 178.
- 12.30 Brener Z, Filardi L. A rapid method for testing in vivo the susceptibility of different strains of Trypanosoma Cruzi to active chemotherapeutic agents. Mem Inst Oswaldo Cruz 1983; 79: 221-225.

- 12.31 MacCabe R. et al. Ketoconazole protects against infection with Trypanosoma cruzi in a murine model. Am J Trop 1993; 21:960-961.
- 12.32 Cáceres A. et al. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en Guatemala. Memorias VIII Congreso Latinoamericano de Parasitología y I Congreso Guatemalteco de Parasitología y Medicina Tropical. Guatemala, 1987. 273 p.
- 12.33 Cáceres A. et al. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Detección Etnobotánica y Bibliográfica. Rev. USAC 1991; 9:55-77.
- 12.34 Maki J, Cáceres A. Preliminary studies on the effects of plant-origin drugs against parasites, especially Trypanosoma cruzi in Guatemala. USAC: Internal Report of JICA, 1993. 28 p.
- 12.35 Rodas AG. Caracterización biológica de cinco cepas guatemaltecas de Trypanosoma cruzi aisladas de Triatoma dimidiata y Triatoma nitida. Guatemala: USAC, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1994. 53 p.
- 12.36 Yapur AL. Efecto de infusiones de Jacaranda mimisifolia, Neurolaena lobata y Solanum hatwegii; sobre curvas de parasitemia de Trypanosoma cruzi en ratones. Guatemala: USAC, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1994. 51 p.

12.37 Medinilla B. Evaluación farmacológica y toxicológica in vitro de algunas plantas comunmente empleadas en Guatemala contra la Malaria. Revista Científica Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia 1993; 9.1:7-10.

13. ANEXOS

Gráfica No.1

**Actividad tripanostatica de
*Acalypha guatemalensis***

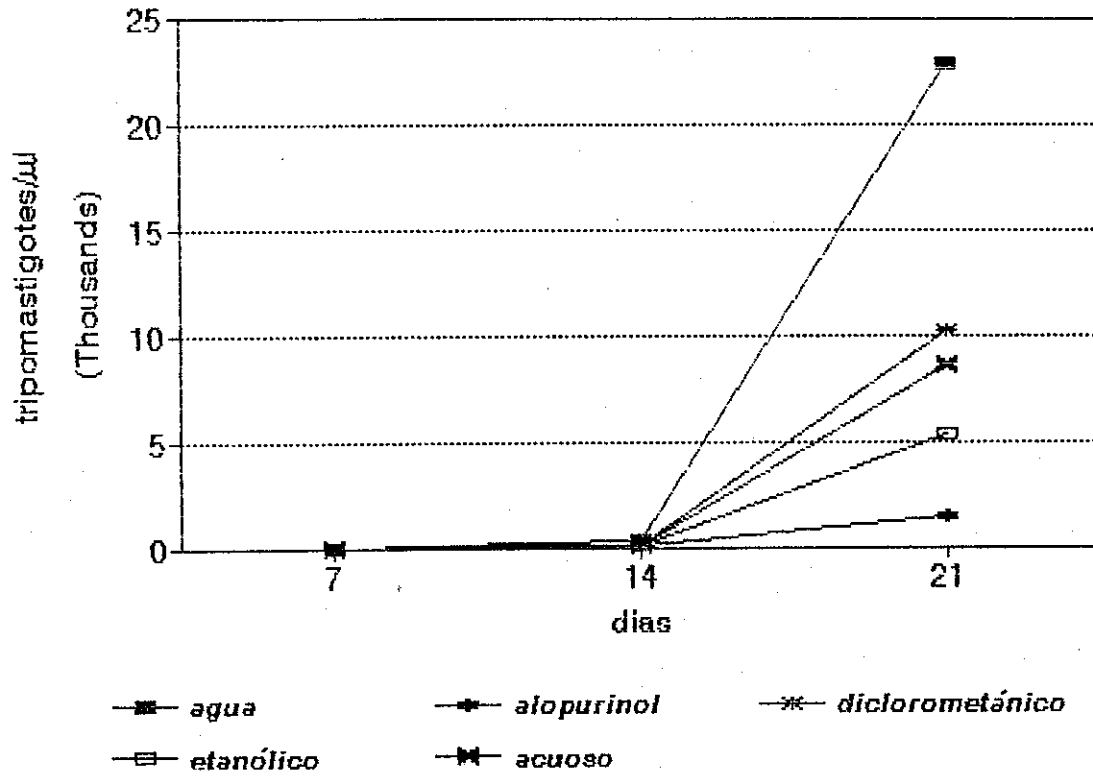


Tabla No.1

Promedio de las curvas de parasitemia (tipomastigotes/ μ l)

de *Trypanosoma cruzi* de los controles y extractos de *Acalypha guatemalensis*

días	agua	alopurinol	diclorometánico	etanólico	acuoso
7	6.64	6.24	2.96	2.72	2.48
14	137.46	39.15	83.38	55.26	45.19
21	34670	2335	13770	7320	13870

Tabla No.2

Análisis estadístico de Acalypha guatemalensis

Ratón	agua	área bajo la curva			
		alopurinol	diclorometánico	etandílico	acuoso
1	2444522.00	137746.00	1008024.50	49049.00	885678.50
2	2299164.00	36967.00	892797.50	66528.00	947649.50
3	2605505.00	224098.00	642694.50	546808.50	800891.00
4	2485696.00	209069.00	956273.50	891870.00	540592.50
5	2396415.00	237496.00	1378335.00	1046664.50	836538.50
Promedio	2446260.60	169075.20	975625.00	520184.00	802270.00
Desv. st.	112959.05	83280.42	265189.87	459296.48	156319.80
Coef. var	4.62	49.26	27.18	88.30	19.48

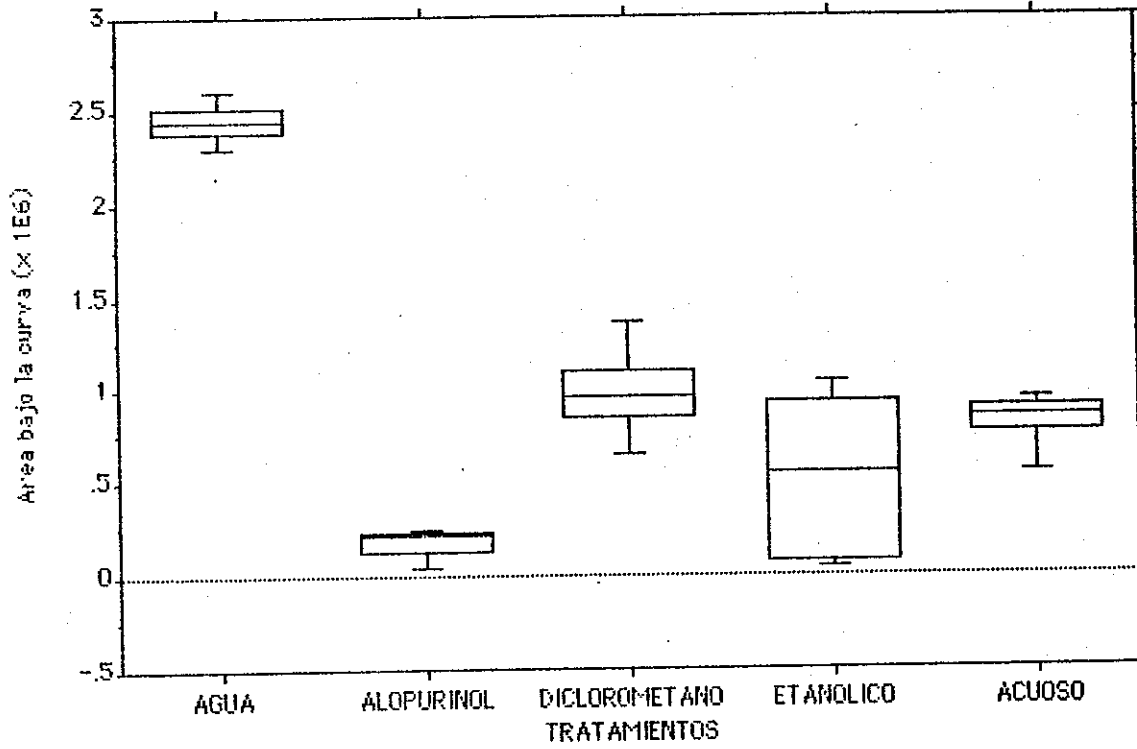
Análisis de varianza

Fuente	SC	GL	CM	F
tratamientos	15252605171883.00	4	3813151292970.74	58.59
error	1301640702922.00	20	65082035146.10	(p<0.05)
total	16554245874805.00	24		

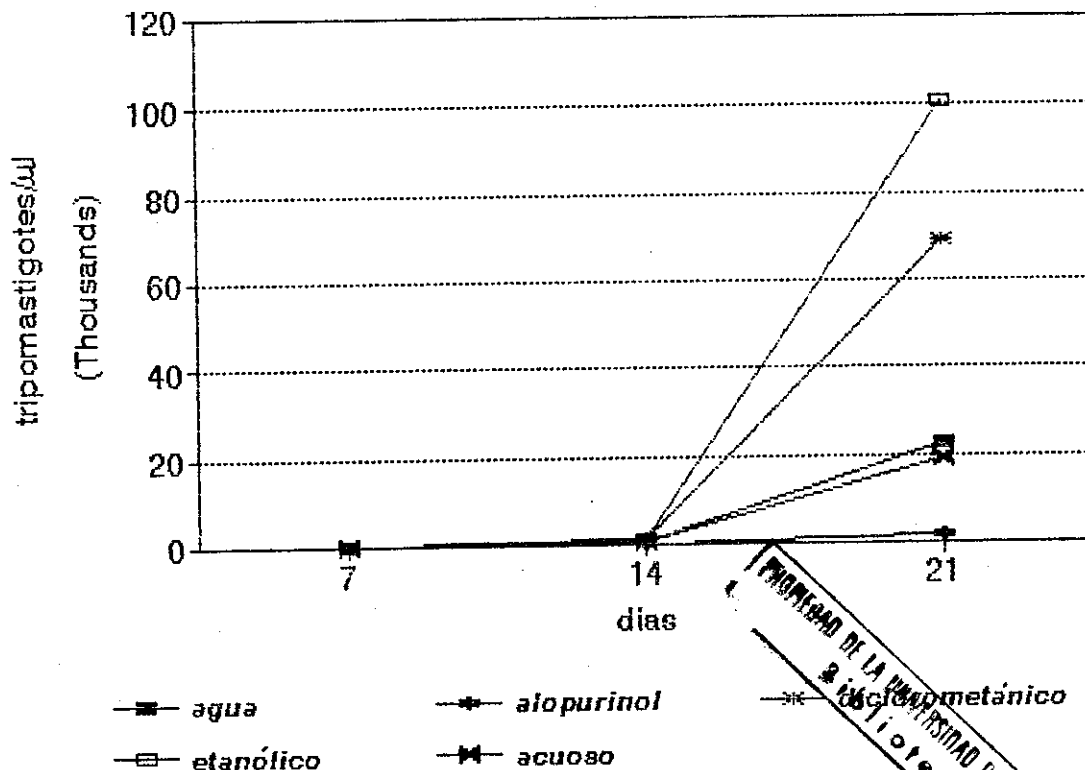
Comparaciones		Dunnnett
alopurinol-agua	-2277185.40	(p<0.05) 427569.22
Etandílico-agua	-1926076.60	(p<0.05)
Acuoso-agua	-1643990.60	(p<0.05)
Diclorometánico-agua	-1470635.60	(p<0.05)

Gráfica No.2

EVALUACION DEL EFECTO DE LA HIERBA DEL CANCER SOBRE *T. cruzi*



**Actividad tripanostática de
*Croton guatemalensis***



BIBLIOTECA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 Biblioteca Central

Tabla No.3
 Promedio de las curvas de parasitemia (tripomastigotes/ μ l)
 de *Trypanosoma cruzi* de los controles y extractos de *Croton guatemalensis*

días	agua	alopurinol	dielclorometánico	etanólico	acuoso
7	11.45	7.95	9.64	5.4	9.6
14	8700	5300	5040	8686.6665	1680
21	40100	19100	32480	37486.6665	10580

Tabla No.4

Análisis estadístico de Crotón guatemalensis

Ratón	Área bajo la curva				
	agua	alopurinol	diclorometánico	etanólico	acuoso
1	3528196.00	3276178.50	1792096.00	4144087.50	812070.00
2	2520245.00	1456105.00	4032213.50	3696112.00	924112.00
3	5544157.50	1680122.50	3332182.00	3668084.00	1540196.00
4	4508203.00	1624150.50	2380105.00		812234.50
5			3360157.50		784140.00
Promedio	4025200.38	2009139.13	2979351.2	3836094.5	974550.5
Desv. st.	1297745.01	850039.94	886945.35	267097.66	320741.89
Coef. var	32.24	42.31	29.77	6.96	32.91

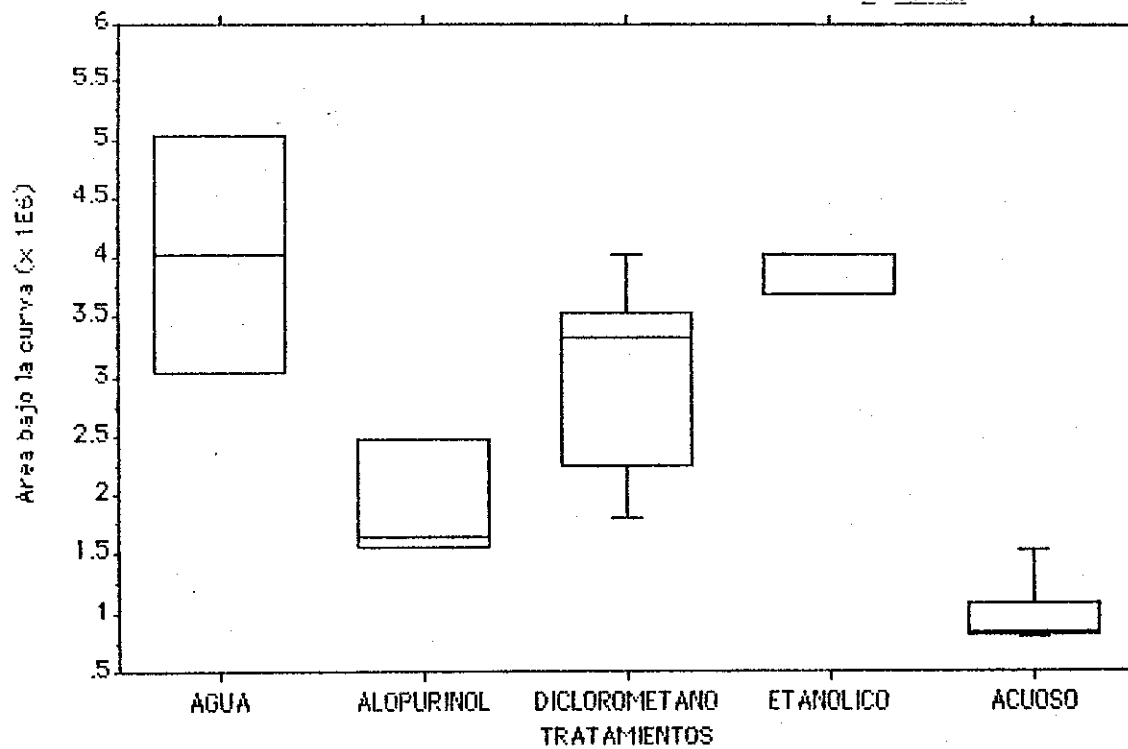
Análisis de varianza

Fuente	SC	GL	CM	F
tratamientos	2800336512939.50	4	7000841303234.87	10.26
error	10921001964075.20	16	682562622754.70	(p<0.05)
total	38924367177014.70	20		

Comparaciones		Dunnett
alopurinol-agua	-2016061.25	(p<0.05) 1583162.68
Etanólico-agua	-189105.88	(NS) 1710011.14
Acuoso-agua	-3050649.88	(p<0.05) 1501919.99
Diclorometánico-agua	-1045849.18	(NS) 1501919.99

Gráfica No.4

EVALUACION DEL EFECTO DE COPALCHI SOBRE *T. cruzi*



Actividad tripanostática de *Jatropha curcas*

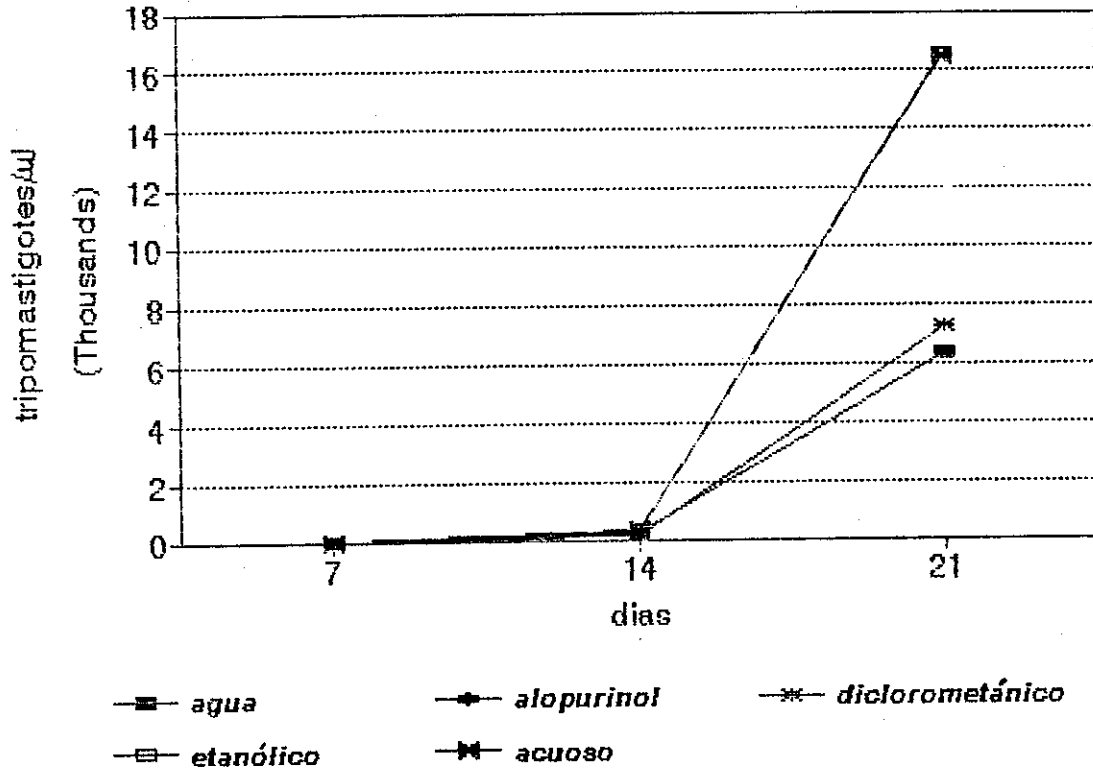


Tabla No. 5

Promedio de las curvas de parasitemia (tripomastigotes/ μ l) de *Trypanosoma cruzi* de los controles y extractos de *Jatropha curcas*

días	agua	alopurinol	diclorometánico	etanólico	acuoso
7	5.72	-	3.48	4.52	4.8
14	1120	-	640	720	720
21	3150	-	4160	11200	11280

Tabla No. 6
Análisis estadístico de Jatropha curcas

Ratón	agua	área bajo la curva			
		alopurinol	diclorometánico	etanólico	acuoso
1	203105.00	NS	504105.00	376063.00	2968122.50
2	430622.50	NS	476084.00	1988084.00	252042.00
3	392098.00	NS	308045.50	1344140.00	280098.00
4	437591.00	NS	280038.50	280052.50	504070.00
5	433584.00	NS	336031.50	476056.00	448087.50
Promedio	377400.10	NS	380860.90	884879.10	890484.00
Desv. st.	98973.90	NS	102143.85	752019.33	1166382.38
Coef. var	26.23	NS	26.82	84.99	130.98

Análisis de varianza

Fuente	SC	GL	CM	F
tratamientos	1293229332382.14	3	431076444127.38	0.89
error	7784840508037.60	16	486552531752.35	(NS)
total	9078069840419.74	19		

Comparaciones		Dunnnett
Etanólico-agua	507449.00	(NS) 1142601.07
Acuoso-agua	513083.90	(NS)
Diclorometánico-agua	3460.80	(NS)

Gráfica No.6

EVALUACION DEL EFECTO DEL PIÑON SOBRE *T. cruzi*

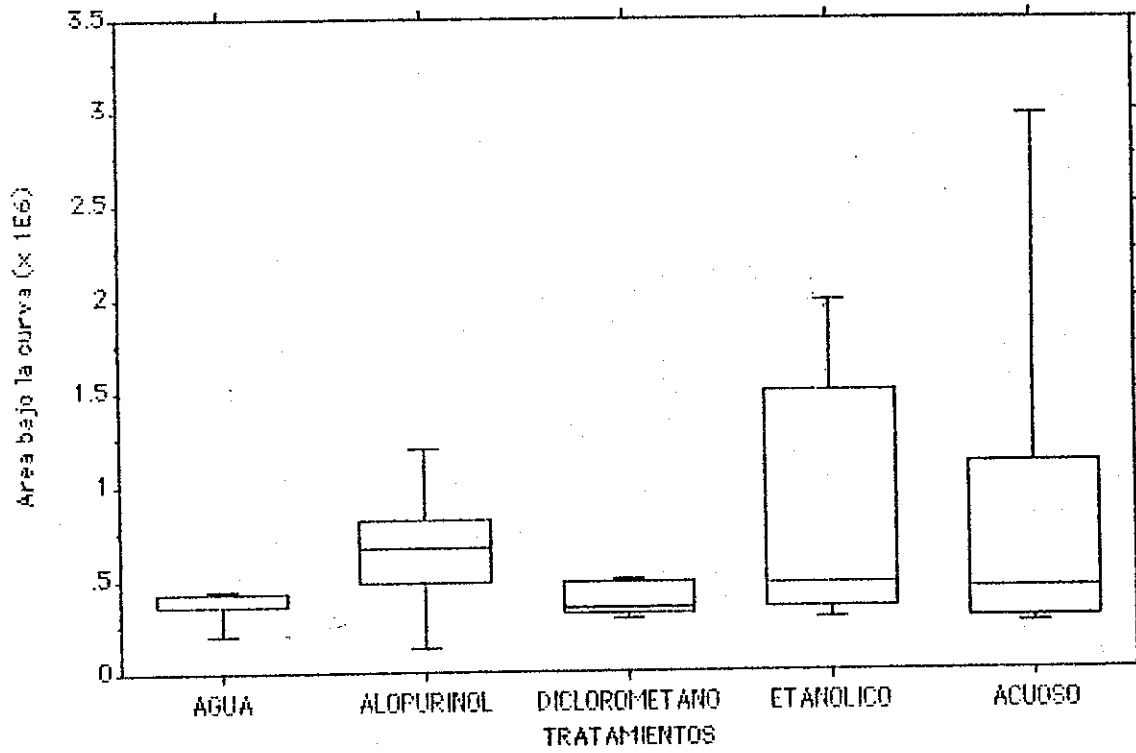


Tabla No. 8
 Análisis estadístico de Jatropha curcas (repetición)

Ratón	Área bajo la curva				
	agua	alopurinol	diclorometánico	etanólico	acuoso
1	784122.50	70063.00	532112.00	504122.50	448136.50
2	952091.00	56052.50	504129.50	532105.00	336105.00
3	392091.00	56080.50	1064119.00	476140.00	476108.50
4	504126.00	98063.00	588133.00	448126.00	728101.50
5	770140.00	56091.00		476126.00	
Promedio	680514.10	67270.00	672123.38	487323.90	497112.88
Desv. st.	227388.52	18248.40	263653.86	31915.86	165448.03
Coef. var	33.41	27.13	39.23	6.55	33.28

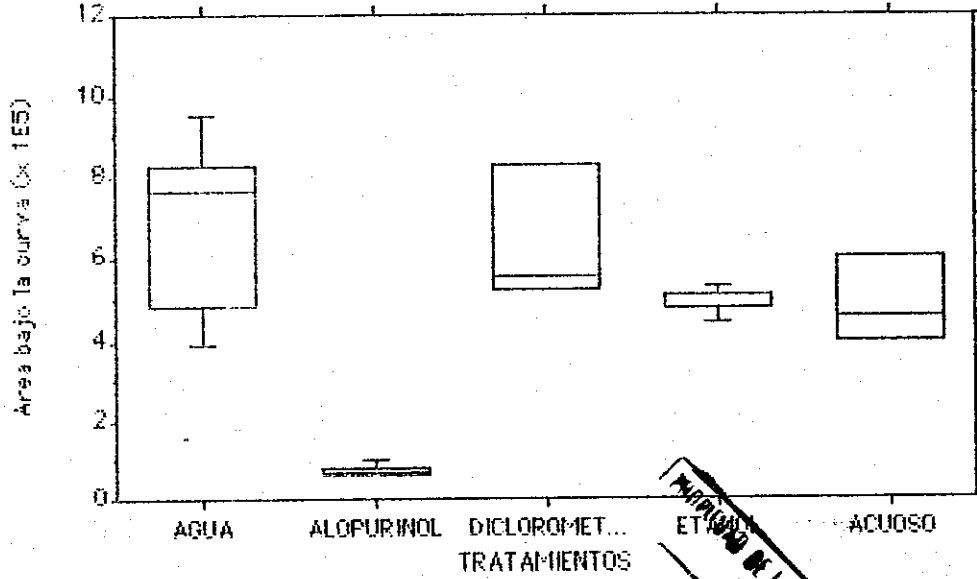
Análisis de varianza

Fuente	SC	GL	CM	F
tratamientos	1200316173215.03	4	300079043303.76	11.34
error	502887896380.26	19	26467784020.01	(p<0.05)
total	1703204069595.30	23		

Comparaciones		Dunnett
alopurinol-agua	-613244.1	(p<0.05) 273697.24
Etanólico-agua	-193190.2	(NS) 273697.24
Acuoso-agua	-183401.23	(NS) 290299.77
Diclorometánico-agua	-8390.72	(NS) 290299.77

Gráfica No.8

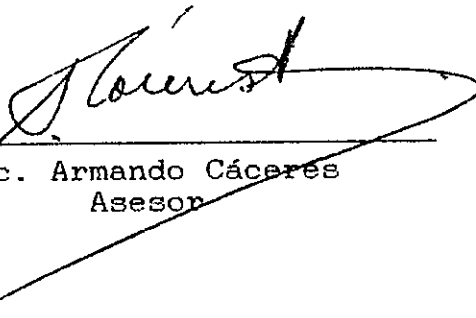
EVALUACION DEL EFECTO DEL PIÑON SOBRE *T. cruzi*



UNIVERSIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE CALICUT
Biblioteca



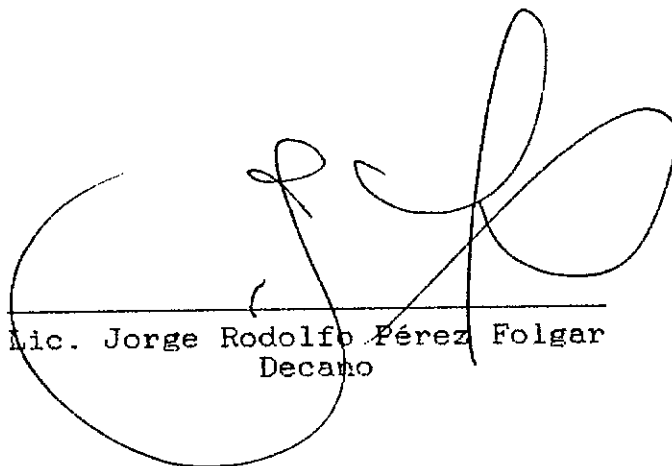
Br. Sonia Cecilia González Ch.
tesista



Lic. Armando Cáceres
Asesor



Lic. Gerardo Arroyo
Director



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano