

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



Informe Final de Tesis

Presentado por:

ANAITE DIAZ ARTIGA

Para optar al Titulo de

Quimico Farmaceutico

Guatemala, noviembre de 1999

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANA	Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
SECRETARIO	Lic Oscar Federico Nave Herrera
VOCAL I	Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto
VOCAL II	Dr. Ruben Darrel Velazquez Miranda
VOCAL III	Lic. Rodrigo Herrera San José
VOCAL IV	Br. David Estuardo Delgado Gonzalez
VOCAL V	Br. Estuardo SolOrzano Lemus

DEDICATORIA

A mi familia, en especial a mi madre Helen Artiga Monterroso de Diaz, mi hermana

~~Mayan (y a mi esposo Mario Diaz Anzuetto).~~

AGRADECIMIENTOS

~~Deseo agradecer al Departamento de Zoología, Genética y Vida Silvestre de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por la invaluable oportunidad de aportar una pequeña contribución al estudio de una de las enfermedades tropicales más importantes. Quiero agradecer especialmente a la Licenciada Carlota Monroy, jefa del proyecto Chagas USAC, por la asesoría brindada y a la Licenciada Antonieta Rodas por su valiosa colaboración.~~

~~A Mario Díaz Anzueto, quien revisó y sugirió correcciones a esta tesis.~~

INDICE

I.	Resumen	1	
II.	IntroducciOn	2	
III.	Antecedentes	4	
	A.	DefiniciOn	4
	B.	TransmisiOn conganita	4
	1.	Epidemiologia	5
	2.	Patologia -	8
	3.	Matodos de diagnOstico	10
	4.	Tratamiento	11
	5.	Profilaxis	12
	C.	Agente etiologico	13
	D.	Uso de plantas medicinales	13
	1.	Planta medicinal utilizada	14
IV.	JustificaciOn	16	
V.	Objetivos	18	
VI.	HipOtesis	19	
VII.	Materiales y Matodos	20	
	A.	Universo de Trabajo	20
	B.	Muestra	20
	C.	Recursos	20
	D.	Procedimiento	22
VIII.	Resultados	25	
IX.	DiscusiOn de Resultados	27	
X.	Conclusiones	32	
XI.	Recomendaciones	33	
XII.	Referencias Bibliograficas	34	
XIII.	Anexos	40	

I. RESUMEN

Se evaluó la actividad tripanostética del huiz (*Solanum hartwegii* (Benth)), sobre ~~hembras preñadas y su descendencia~~. Se utilizó como modelo experimental a ~~ratones hembras preñadas y su primera descendencia~~. Los ratones hembras fueron inoculados al inicio del estudio con *T. cruzi* a una concentración aproximada de 1×10^4 tripomastigotes/ml. La infección fue evaluada a través de ~~conteos directos en sangre en días alternos por 45 días, iniciando al séptimo día de la inoculación~~. La infusión de *S. hartwegii* se preparó a partir de las partes florales secas y posteriormente molidas en un molino eléctrico. Se adicionaron 100 ml de agua hirviendo a ~~10 gramos de material seco~~ se separaron las partículas mayores con colador. Ya fría, se administró la infusión por vía oral usando una sonda orogastrica iniciando al segundo día. Se utilizó agua como control. Los ~~chequeos~~ de parasitemia de la primera descendencia se realizaron cada ocho días, iniciando al octavo día de nacidos y continuándose por mes y medio.

La infusión del huiz (*S. hartwegii*), aunque disminuyó la parasitemia, en los ~~ratones hembras preñados~~ no fue estadísticamente significativo a la concentración administrada (1000 mg/ Kg de peso).

~~Tanto las crías de los ratones hembras control, como las crías de los ratones hembras bajo tratamiento, no mostraron resultados positivos por el método de conteo directo de tripomastigotes de *T. cruzi* en sangre. Esto indica que este método no es efectivo para determinar si existe o no transmisión congénita de la enfermedad ni efecto de la infusión sobre el neonato~~

II. INTRODUCCION

El *Trypanosoma cruzi* es un protozoo hemoflagelado que cause la enfermedad de Chagas, una importante cause de afecciones del corazOn en Latino America. Aproximadamente de 10 a 20 millones de individuos estan infectados con el pasesito y 50,000 mueren anualmente asociados con la infecci6n. En areas donde la enfermedad es endemica es mas coman en el sector rural pobre, que vive en un ambiente con muchos reservorios del huesped, principalmente habitaciones Kisticas(1).

Una de las formas de transmisiOn es la congenita la cual esta asociada con nacimiento prematuro, aborto y placentitis(1). Para enfatizar la importancia de esta forma de transmisiOn es suficiente mencionar que la prevalencia de *T. cruzi* en mujeres embarazadas infectadas en Sur America es del 2 al 51% en centros urbanos y del 23% al 81% en areas endemicas. Las madres infectadas, aun sin presentar la sintomatologia pueden transmitir la enfermedad al feto a traves de la placenta y ocasionalmente al lactante(2).

Min no se ha encontrado una vacuna que prevenga la transmisiOn del *T. cruzi* y ninguna droga quimioprofilectica este disponible(3). Sin embargo se utilizan drogas como el nifurtimox y el benzonidazole en la quimioterapia de la enfermedad de Chagas. Este tratamiento, edemas de costoso, se asocia con una alta incidencia de serios factores secundarios como son neuropatias, erupciones, disturbios gastrointestinales y psicquicos, seguidos de anorexia, perdida de peso y es de riesgo en embarazadas(4).

En Guatemala es coman el use de medicine altemativa tal como las plantas medicinales. Este tipo de tratamiento es generalmente Ilevado pare curar diversas

enfermedades por gente de escasos recursos, que es también el grupo con mayor probabilidad de contraer la enfermedad de Chagas.

Una de las plantas estudiadas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas es el huiz (*Solanum hartwegii* Benth 1839 (Solanaceae)). La acción tripanostática del huiz sobre *T. cruzi*, fue probada por Yapur (1994) en ratones de laboratorio utilizando una infusión de las flores de este arbusto (5)

No existen estudios sobre los efectos del tratamiento con infusiones de *Solanum hartwegii* en embarazadas ni sobre sus neonatos, además los tratamientos con los medicamentos citados anteriormente son inaccesibles a la población que padece de esta enfermedad en áreas endémicas, por lo que este estudio tuvo por objeto conocer estos efectos y poder brindar una alternativa de tratamiento a las personas del área rural endémica.

Esta investigación se realizó con 20 ratones hembras albinas las cuales se pusieron a copular con un macho, un día después de infectadas con una cepa de alta parasitemia de *T. cruzi*. Después de tres días se inició la administración de la infusión de *Solanum hartwegii* a 10 ratonas por un período de 45 días. A los 7 días de ser infectados los 20 ratones hembras, se iniciaron los conteos de parasitemia (número de tripomastigotes por ml de sangre) cada 48 horas. Los conteos de parasitemia en los recién nacidos se hicieron a los 8, 16, 24, 32 y 40 días después de nacidos. Se pretendía comprobar si la planta exhibía efecto tripanocida en ratones hembras y su primera descendencia. Se aplicó el diseño estadístico de número de replicas, para determinar la disminución de la parasitemia, utilizándose la prueba estadística de hipótesis. La transmisión congénita de *T. cruzi* se evaluó con base en una respuesta dicotómica (positivo o negativo). No fue posible utilizar la prueba de Chi cuadrado ya que todos los recién nacidos mostraron ausencia de parásitos en sangre durante el mes y medio que fueron evaluados.

III. ANTECEDENTES

A. Definición

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es una enfermedad antroponóptica difundida en América Latina (1). Fue descubierta en Brasil en 1909, por Carlos Chagas quien demostró que *Trypanosome cruzi* es el agente patógeno, el cual es transmitido principalmente en condiciones naturales por un vector hematófago, perteneciente a la familia *Triatominae* (6). El agente se presenta bajo dos formas: flagelada, (tripomastigote, promastigote y epimastigote), o aflagelada (amastigote). El tripomastigote es la forma infectante que se encuentra circulando en la sangre del hombre (y otros huéspedes) y en el intestino posterior del vector, de aquí son liberados o excretados en las heces fecales contaminando así al huésped humano al introducirse por lesiones en la piel o en las membranas mucosas. Esta transmisión se denomina "de estado posterior o por "contaminación"(7,8).

La transmisión por transfusiones de sangre es común, en áreas endémicas. Otra forma de transmisión importante es la congénita asociada con nacimiento prematuro, aborto y placentitis. La leche materna, trasplantes de órganos y accidentes de laboratorio son otras fuentes probables de transmisión (9).

B. Transmisión congénita

Esta posibilidad fue planteada por Carlos Chagas en 1911 y confirmada por Dao en Venezuela en 1949, con la descripción del primer caso de enfermedad de Chagas congénita (10).

Para enfatizar la importancia de esta forma de transmisión es suficiente decir que la prevalencia de infecciones de *Tripanosoma cruzi* en mujeres embarazadas en

~~Sur America es del 2% al 51% en areas urbanas y del 23% al 81% en areas endemicas(11).~~

~~En Bahia Brasil, se encontro en mujeres no seleccionadas, que existia cerca de un cas de infeccion congenita de Chagas por cada 1000 nacimientos, mientras que en Bolivia la frecuencia de transmisiOn es mucho mayor (cerca del 7.5%) (12).~~

~~Min sabiendo que la infecciOn congenita por el T. **cruzi** es una entidad clinica no esta claro el alcance clinico de las infections que son inaparentes en el momento del parto, pero se hacen evidentes meses mils tarde. Se sabe tambien que el pa:tit° se transmite por via transplacentaria en un porcentaje del 0.5% al 2%, generalmente entre el quinto y sêptimo mes del embarazo (13-15).~~

~~La razen por la que T. **cruzi** atraviesa la placenta en una pequena proporciOn de madres infectadas es desconocida. Se han observado red& nacidos con enfermedad congenita de chagas que son sanos al nacer, pero el mayor interes se le ha dado a aquellos nacidos enfermos o que puedan desarrollar algOn daft despues (14).~~

~~La transmisiOn congenita de chagas puede ocurrir durante cualquier fase de la enfermedad de la madre, el riesgo de transmisiOn deberia ser mayor en la fase aguda cuando la parasitemia es alta y persistente. En un estudio llevado a cabo en San Pablo, Brasil, solo ocho casos de enfermedad de Chagas en fase aguda ocurrieron durante el embarazo y en cinco de ellos la transmisiOn congenita ocurriO (16). En madres chagesicas crOnicas, la frecuencia de transmisiOn es airededor del 1.6% (17).~~

1. Epidemiologia

La enfermedad de Chagas constituye un serio problema de Salud POblica en Centro y Sur America. Su area de prevalencia se superpone a la presencia de insectos vectores de la misma, extendiendose desde el sur de Estados Unidos

hasta la Argentina, (paralelo 40, latitud sur). Se calcula que existen en este amplio territorio alrededor de 18 millones de personas infectadas. La población americana expuesta al riesgo de infectarse oscila en 60 millones de personas (16).

Originalmente esta enfermedad era una enzootia exclusiva del área silvestre y el origen de la difusión de la enfermedad al hombre se debió al contacto de este con los triatomíneos en las regiones rurales endémicas, y la posterior adaptación del insecto vector al domicilio humano, principalmente en las viviendas humildes construidas con adobe y techo de paja.

Existen varios géneros y especies de vectores, tanto silvestres como domiciliarios y peridomiciliarios, pero la especie más importante por su llamativa adaptabilidad al domicilio humano y gran dispersión geográfica es la chinche picuda (*Triatoma infestans*)(8).

Los reservorios en la naturaleza de *T. cruzi* son mamíferos, en general de mediano y pequeño tamaño constituidos principalmente por desdentados y marsupiales. A nivel peridomiciliario se constituyen como importantes reservorios el gato, el perro y los roedores. Las ayes son refractarias a la infección, pero son importantes desde el punto de vista epidemiológico pues son fuente de alimento para las chinches (17).

El primer caso humano de enfermedad congénita fue reportado por Carlos Chagas en Brasil en 1911, habiendo otros reportes posteriores, como los de Bittencourt y col, quienes han encontrado hasta 10% de incidencia en Salvador, Bahía Brasil (18). Se estima que cerca de un 2.4% de niños recién nacidos vivos de madres infectadas pueden sufrir esta enfermedad (19).

De los casos reportados de enfermedad de Chagas congénita muy pocos han sobrevivido los primeros años de vida, lo cual dificulta el seguimiento, conociéndose muy poco acerca del curso natural de esta (20).

Existen diferencias geograficas en la frecuencia de la transmision congenita de la enfermedad encontrandose en estudios realizados en mujeres de bajo nivel socioeconemico una prevalencia mayor en Bolivia que en Bahia Brasil, 10.8 y 8.5%, respectivamente. En otros estudios realizados en recién nacidos en areas endemicas de Argentina, se ha encontrado que la transmision ha sido hasta del 10%. En Chile la seropositividad varia de un 0.8 a 7.4% dependiendo del area endemica(20-21).

En areas endemicas, utilizando xenodiagnostico, se ha demostrado una mayor parasitemia en embarazadas chagesicas que en chagesicas no embarazadas. Resultados que concuerdan con trabajos experimentales donde se ha observado un incremento en la patogenicidad del *T. cruzi* en ratones durante el embarazo (22).

En Centro America, existen muy pocos estudios relacionados con la incidencia de la enfermedad de Chagas congenita encontrandose ma's casos reportados en Sur America(18). En un estudio realizado en dos hospitales de la zona endemica de Guatemala, Jalapa y Juliapa, se encuentre por metodos serologicos un 4.5% de seroprevalencia en recién nacidos (23).

La transmision transplacentaria de *T. cruzi* en Guatemala, este representada por los estudios efectuados en el Departamento de Santa Rosa, donde Alvarez (1986) determine la frecuencia de anticuerpos anti *T. cruzi* en 100 mujeres embarazadas, de las cuales 23 resultaron positivas (24).

Durante 1987 y 1988 Arias y col. realizaron un estudio preliminar en dos hospitales de la zona endemica de Guatemala, en la que tamizaron 1,720 muestras de sangres provenientes de 208 parejas madre-neonato de la maternidad del Hospital Nacional de Chiquimula y 425 muestras del Hospital Nacional de Zacapa, no pudiéndose comprobar ningtin caso de transmisiOn.

congenita. Debido a ello en 1991 Tercero realizO nuevamente este estudio encontrando que la prevalencia de la infección chagOsica es de un 15 hasta un 40% (24). Varios autores han fallado en identificar casos de transmisión congénita ya sea por estudiar pocos casos o excluir los casos de muerte intrauterina(21).

2. Patología

La transmisión congénita de Chagas se da mediante el paso de parásitos en forma de tripomastigote de la sangre materna a la circulación fetal a través de una solución de continuidad de barrera fetoplacentaria por daño a las membranas o por alteración funcional de la placenta. El parásito en forma de tripomastigote penetra las células epiteliales, pasa las vellosidades y en las células de Hoffbauer se transforma en amastigotes formando un acómuo o nido hasta que son liberados nuevamente en la circulación fetal y el corion (23).

En el feto, los tripomastigotes entran a la placenta a través del trofoblasto. En la zona vellosa de la misma, permanecen como amastigotes, hasta que son liberados de la circulación fetal en forma de tripomastigotes. Ocurre en cualquier fase de la enfermedad materna y puede ocasionar aborto (25). De las observaciones de Bittencourt en 90 casos de aborto, 20 fueron fetos macerados, cuyos estudios microscópicos revelaron que los órganos más afectados eran corazón, esófago, piel y mielocelular esquelético (26).

Los hallazgos clínicos más comúnmente encontrados son la prematuridad y el bajo peso al nacer, pudiendo además encontrarse hepatomegalia, anemia, ictericia, edema, petequias, signos de meningoencefalitis, convulsiones y parálisis espasmódica. En la mayoría de los casos estos signos son causa de mortalidad en las primeras horas de vida y los casos menos severos que sobreviven demuestran estancamiento en las curvas de peso, disfagia y deficiencia mental (21,27).

El papel que desempeñan estas alteraciones y la patogenicidad de la cepa de *T. cruzi* en el pasaje del parásito al feto, fue demostrado por Delgado y Andrade, en su trabajo del bloqueo de la actividad de los macrófagos placentarios de la rata. Se demostró que la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* tanto en las madres como en su hijo y el bloqueo de los macrófagos placentarios facilitan en el ratón el paso del parásito al feto, destacando que desempeñan alteraciones placentarias en la transmisión materno-fetal del *T. cruzi* (28).

Los aspectos patológicos van desde la inflamación, hasta lesiones granulomatosas. La placenta infectada generalmente es grande, pálida, amarillenta y con abultamientos en los cotiledones (29).

La patogénesis de la enfermedad de Chagas congénita es aún incierta. A pesar de que en algunos casos se han presentado lesiones que parecen estar relacionadas con la invasión directa del parásito, en otros se encuentran lesiones con reacción inflamatoria que involucran estructuras vasculares del feto aún en la ausencia del parásito en la placenta. Se dice hoy que el *T. cruzi* alcanza el feto por diseminación hematológica atravesando la placenta y algunos autores sugieren que los parásitos deben encontrar alguna lesión previa en el trofoblasto para poder penetrar el cordón (20-21).

Los casos demostrados a la fecha corresponden al cuadro agudo de la enfermedad. En estudios se ha reportado que la madre puede presentar placentitis y es característico encontrar amastigotes dentro de los histiocitos de las reacciones inflamatorias. La literatura reporta la enfermedad como causa de abortos, partos prematuros y mortinatos (30-31).

Estudios realizados en ratones han demostrado la presencia de la transmisión congénita secundaria a infección crónica, y que la infección crónica en ratones hembras, si bien no altera la fecundidad, produce una disminución significativa en el número de crías y en la sobrevivencia de las mismas (28).

3. Metodos de diagnostico

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas se puede realizar adoptando métodos parasitológicos y serológicos, que permiten demostrar tanto el parásito circulante como anticuerpos específicos tipo IgG e IgM, así como determinar las implicaciones inmunopatológicas que puedan encontrarse en la madre y su neonato(32).

3.1. Metodos parasitológicos

Estos permiten detectar a los tripanosomas en la sangre periférica — Ester, especialmente indicados en la fase aguda de la infección ya que es aquí donde existe una parasitemia elevada.

Los métodos más utilizados son el xenodiagnóstico, el hemocultivo y el examen microscópico de sangre (33).

Las técnicas más usadas son los (rotos tenidos o la observación en fresco de una gota de sangre al microscopio. En la literatura se reporta el estudio de sangre fresca como un método adecuado para este tipo de pacientes ya que generalmente este!, en fase aguda, y es donde estos métodos son más sensibles (34). En el caso de la enfermedad congénita, la obtención de la muestra de la madre y del niño puede realizarse en papel filtro (18).

El xenodiagnóstico utiliza el vector natural criado en el laboratorio y libre de infección. Los pacientes sospechosos se hacen picar por estos insectos, los parásitos entran con la ingestión de la sangre, se reproducen y después de 14 días se buscan en los materiales fecales de los triatominos, las lecturas se realizan a los 30, 60 y 90 días. Esta técnica es engorrosa, cara, requiere mucho tiempo y ocasiona trastornos en el paciente. Su uso es difícil ya que la toma de muestra es incómoda y complicada de realizar(24).

En la transmisión congénita de Chagas se considera que todo recién nacido de madre seropositiva por xenodiagnóstico o por demostración de *T. cruzi* en ~~examen directo de sangre, debe ser estudiado para diagnosticar la posible~~ transmisión (35).

3.2. Métodos serológicos

~~Son los de mayor utilidad para el diagnóstico, cuando no existe parasitemia. La presencia de anticuerpos es una evidencia indirecta de que el paciente se ha infectado con *T. cruzi*. La prueba más utilizada es la reacción de fijación del complemento, la especificidad de esta prueba es cercana al 100%, estas pruebas detectan anticuerpos IgG e IgM (36).~~

~~El diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en América fue discutido en 1981 por el Banco Mundial y la Organización Mundial de la Salud. Estas organizaciones recomendaron la distribución de sueros patrón que tengan valores precisos y aceptables en cuanto a la especificidad y sensibilidad. También recomendaron realizar el diagnóstico con por lo menos tres métodos, de tal forma que se obtengan resultados que demuestren variabilidad de títulos para definir si el suero es positivo o negativo con mayor seguridad y garantizar así que sean comparables los resultados y dar un diagnóstico certero. (37)~~

4. Tratamiento

~~No existe quimioterapia o medicamento profiláctico para la mujer embarazada. Existe muy poca experiencia en infecciones congénitas de Chagas por lo que no se conocen los efectos colaterales de estos compuestos en el feto (21).~~

~~En este momento solo se dispone de dos drogas, que se distribuyen comercialmente: Nifurtimox y benznidazol, las cuales han sido usadas como tratamiento de Chagas congénito.~~

~~El Nifurtimox pertenece al grupo de los derivados nitrofuranos, su mecanismo de acción se ejerce sobre ciertas enzimas indispensables para el metabolismo del parásito. La dosis recomendada va de 8 a 25 mg/Kg de peso/día por 30 a 60 días.~~

~~El benznidazol debe ser usado en la dosis de 5 a 7 mg/Kg de peso/día durante 60 días. Dosis mayores pueden llegar a producir polineuropatía periférica (38).~~

~~El tratamiento con las drogas anteriores está asociado con una alta incidencia de seros efectos secundarios como son: neuropatías, erupciones, disturbios gastrointestinales y psíquicos, seguidos de anorexia y pérdida de peso (39).~~

~~El tratamiento se considera exitoso cuando ambas pruebas parasitológicas y serológicas aparecen negativas y se mantienen así durante por lo menos 1 año después del tratamiento. Mientras más temprano es realizado el diagnóstico y aplicado el tratamiento mayor será la probabilidad de que el paciente se cure (40).~~

5. Profilaxis

~~La tripanosomiasis americana, como otras enfermedades parasitarias, constituye un serio problema socioeconómico en Latinoamérica ya que condiciona el mejoramiento de la vivienda, el control de los reducidos vectores por medio de insecticidas y el control de las unidades de sangre en los Bancos de Sangre (41).~~

~~Ya que no existen medidas de prevención en la infección congénita, infantes de madres seropositivas deben ser evaluados y seguidos durante un año luego de nacidos. Debe examinarse al nacer lo más pronto posible con pruebas parasitológicas y buscar anticuerpos IgG e IgM específicos. Durante esa edad será indicado el tratar al niño (40).~~

C. Agente etiológico

El agente etiológico es *Trypanosome cruzi* se halla en tres formas morfológicamente distintas; relacionadas con los tres diferentes medios en que el parásito habita. Los amastigotes son organismos de forma esférica u ovalada de 2 urn de diámetro que no poseen flagelos y representan una forma de multiplicación, se les encuentra intracelularmente en los mamíferos huéspedes (41).

Los epimastigotes tienen un flagelo, una membrana cotta ondulante y el kinetoplasto situado delante del núcleo. Son organismos fusiformes de unos 20 urn de largo y representan una forma de multiplicación que se encuentra en el tubo digestivo del vector y en los cultivos. Los tripomastigotes, tienen el kinetoplasto situado detrás del núcleo, un flagelo en forma de membrana ondulante que va a lo largo de todo el microorganismo. Miden unos 20 urn de largo y representan una forma infecciosa no multiplicativa, aparecen en la luz del recto de los roedores y son infecciosos para los mamíferos. También se encuentran en el mamífero huésped, en donde transmiten la infección de una célula a otra o la inician en el roedor cuando se ingiere con la sangre. *T. cruzi* crece en casi todas las células del cuerpo, fibroblastos, células de la médula ósea de los nodulos linfáticos, adiposas, del músculo estriado, del bazo, del hígado, del riñón, y del sistema nervioso (41).

D. Uso de plantas medicinales

La mayoría de la población mundial continua usando fitoterapia (42). Esta se basa en la utilización de derivados de las plantas para el tratamiento de enfermedades algunas de ellas producidas por protozoarios como la Malaria y Leishmaniasis (43).

Foumet et al. estudiaron la acción de 14 alcaloides bisbenzilosquinolina in vitro ~~sobre tres cepas de *T. cruzi*~~, los cuales mostraron una interesante actividad antitripanosómica (44).

~~Gonzales et al. reportan la evaluación del efecto tripanocida de productos de origen vegetal de la flora autoctona 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 (45).

~~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 µg/ml llamados dapanandrina, limacina, feantina, dafmolina y cocsulina (46).~~

1. Planta medicinal utilizada en la presente investigación

Su nombre científico es *Solanum hartwegii* (Benth), pertenece a la familia de las solanáceas y comúnmente se le conoce como huiz, friega platos, lava platos o berenjena (47).

1.1. Descripción de la planta

~~Es un arbusto de 0.5 a 3.5m 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 cáliz y corola de una sola pieza, dividida en 5 lóbulos y casi siempre también con 5 estambres a veces de longitud desigual. Las flores se agrupan en ramilletes semejantes a umbeladas o nacen aisladas de una en una, pero comúnmente tanto las flores como los ramilletes nacen fuera de las axilas de la~~

hoja. El fruto es una capsula o boya dividida en dos compartimientos y con frecuencia cada uno de ellos se subdivide en otros dos (47-48).

1.2. Origen y distribuciOn

Crece silvestre en lugares hamedos, tambian en matorrales y bosques de pino-encino, del norte de Mexico a Costa Rica, entre los 1200 y 3200 mts. de altitud, tambian se encuentra en las montafias de Martinica (49). En Guatemala es frecuente encontrarla en Alta y Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jalapa, El Progreso, Guatemala, Quetzaltenango Quiche, Sacatepaquez, San Marcos, Sold& Tonicapan y Zacapa. (48)

1.3. Usos medicinales

En Alta Verapaz, Guatemala, se aplican cataplasmas de ramas y hojas sobre mordidas de perro. La planta act6a como un madurativo, disolviendo la sangre coagulada. La decocci6n de las hojas se considera un remedio efectivo para infecci6n de oidos y nariz (49).

Yapur (1994), comprob6 cierto efecto thpanostatico sobre **T. cruzi** utilizando la infusi6n de las floras de esta planta sobre ratones, en dosis de 1000 mg por Kg de peso por dia, via oral (5).

IV. JUSTIFICACION

~~El *Trypanosoma emir* es un protozoo hemoflagelado que causa la enfermedad de Chagas, una importante causa de afecciones del corazón en América Latina. El endemismo es más común en el sector rural pobre que vive en un ambiente con muchos reservorios del huésped (50).~~

~~Existen tres formas de transmisión de la enfermedad de Chagas: natural, transfusional y vertical o congénita. Para enfatizar la importancia de esta última forma de transmisión es suficiente decir que la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas en Sudamérica es del 2% al 51% en centros urbanos y del 23% al 81% en áreas endémicas. Las madres infectadas aún sin sintomatología pueden transmitir la infección a su descendencia a través de la placenta y ocasionalmente al lactante.~~

~~Además de aborto, nacimientos prematuros y muertes neonatales, la enfermedad congénita de Chagas puede causar retardo del crecimiento intrauterino y deformaciones. Dos importantes aspectos que solo se observan en la transmisión congénita son las manifestaciones digestivas como megacolon o megacolon y secuelas neurológicas. Estas observaciones demuestran que la enfermedad congénita de Chagas puede causar deformaciones similares a la toxoplasmosis y otras infecciones congénitas.~~

~~Aún no se ha encontrado una vacuna que prevenga la transmisión del *Trypanosoma cruzi*. Sin embargo se utilizan drogas como el nifurtimox y el benznidazole en la quimioterapia de la enfermedad de Chagas. Este tratamiento es costoso, se asocia con una alta incidencia de efectos secundarios y es de riesgo en embarazadas~~

La precaria situación económica de la mayoría de los guatemaltecos así como su herencia cultural hacen que las personas recurran a utilizar especies vegetales de la región para curar las enfermedades que los aquejan.

Existen estudios *in vivo*, en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, que demuestran la actividad tripanostática sobre *T. cruzi* de ciertas especies de plantas, entre ellas *Solanum hartwegii* (5).

No se conoce sobre el efecto que pueda tener la utilización de infusiones de *Solanum hartwegii* (Huiz) sobre la parasitemia de *T. cruzi* en embarazadas y su descendencia. Por lo anterior, se hacen necesarios estudios que evalúen el uso de esta planta en el tratamiento de la enfermedad, como una alternativa más económica y con menos efectos secundarios para la madre y el feto.

V. OBJETIVOS

GENERAL

1. Contribuir al estudio de la actividad tripanostática de *Solanum hartwegii* (Ruiz).

ESPECIFICOS

- 1.1 Ensayar una metodología para determinar la actividad tripanostática en un modelo experimental de ratones hembras prefiadas y su primera descendencia
- 1.2 Evaluar el efecto de tratamiento con *Solanum hartwegii* (Huiz) sobre ratones hembras prefiadas infectadas con *T. cruzi*.
- 1.3 Determinar el efecto del tratamiento con *Solanum hartwegii* (Huiz) sobre la primera descendencia de madres infectadas con *T. cruzi*.

VI. HIPOTESIS

~~La infusiOn de *Solanum hartwegii* (Huiz) posse efecto tripanocida sobre ratones hembras preñadas y su primera descendencia.~~

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo

Flores de la planta *Solanum hartwegii* (huiz)

~~Ratones hembras preñadas~~

~~Cepa de *T. cruzi* MHOM/GT/94/SMI- 04 # 392~~

B. Muestra

Infusiones de flares desecadas de *Solanum hartwegii* Benth (huiz). La acción tripanocida se probó sobre una cepa de *T. cruzi* MHOM/GT/94/SMI- 04 # 392 ~~clasificada según criterios de UNDP/World Bank/WHO, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases on Standardization of Methods for *T. cruzi* Classification (51).~~

C. Recursos

1. Recursos Humanos

Tesista: Anaite Diaz Artiga

~~Asesora Msc. Maria Carlota Monroy E.~~

2. Recursos Institucionales

~~Departamento de Zoología Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Edificio T-10, 2º nivel, Universidad de San Carlos de Guatemala.~~

3. Recursos Materiales

A. Cristalena

Agitador de vidrio

Beakers de 250 ml

~~Cubreobjetos de 222X22 mm~~

Portaobjetos de 76X26 mm

B. Equipo

~~Balanza semi-analifica~~

~~Balanza con cesto para pesar ratones~~

Estufa

Jeringas de 5 cc

Microscopio elktrico

~~Sonda orogastrica~~

Tips de 10 cc

Pipeta calibrada

Tijeras de disecci6n

C. Reactivos

Alcohol etilico al 95%

Cloroformo

~~Cloruro de sodio al 85%~~

EDTA

Flores secas de ***Solanum hartwegii*** (Huiz)

Hipoclorito de sodio

D. Modelo experimental

~~Ratones hembras suizas albinas de siete semanas de edad y peso promedio de 28 g.~~

Cepa guatemalteca de *Trypanosoma cruzi* certificada MHOM/GT/94/SMI-04 #392.

E. Otros

Algodón

Serrín

~~Cajas plásticas para ratones~~

Colador

Concentrado para ración

D. Procedimiento

1. Recolección y Procesamiento

~~La planta, *Solanum hartwegii*, se recolectó en el municipio de Nahualá, Departamento de So1016. Se determinaron los ejemplares en el Herbario de la Escuela de Biología por el Ing. Agrónomo Mario Lenz. Se siguió un proceso de desecación a la sombra, a temperatura ambiente, pulverizándose y almacenándose en bolsas plásticas de 10 gramos cada una.~~

2. Extracción

~~Para la infusión se añadieron 100 ml de agua hirviendo a 10 gramos de fibras secas y molidas, dejándose reposar por media hora. Se separaron las partículas mayores por medio de un colador y se **administró inmediatamente a los ratones.**~~

3. Administration

La infusión fue administrada a los ratones hembras via oral utilizándose una sonda orogestrica a razón de 1,000 mg/Kg. de peso por día.

4. Determinación de la acción tripanostática

En el día cero, 20 ratones hembras albinas de un promedio de 28 g, fueron inoculadas con 1×10^4 tripomastigotes sanguíneos. El día uno fueron puestas junto a un macho por más o menos 5 días para la copulación. Se les administró la infusión durante 45 días a 10 individuos, empezando 24 horas después de la inoculación. El resto de ratones hembras embarazadas e inoculadas se tome como control. El número de formas sanguíneas circulantes se determinó cada 2 días, iniciando al séptimo día de la inoculación; tomando 5 μ l de sangre periférica extraída por punción de la cola de cada ratona hembra. Los 5 μ l se vertieron en un portaobjetos, colocando después un cubreobjetos de 22x22 mm. La cuantificación de la reducción de la parasitemia se calculó por medio de curvas, comparando el número de tripomastigotes obtenidos de los ratones hembras bajo tratamiento y los controles (51). A la primera descendencia de los ratones hembras se les determine) la presencia de formas sanguíneas circulantes iniciando al octavo día de su nacimiento y cada ocho días durante mes y medio.

5. Diseño estadístico

- Número de replicas

Este diseño se utilizó para determinar disminución de parasitemia por la infusión de *Solanum hartwegii* el número de repeticiones para cada grupo es según los siguientes títulos:

$$r_{ij} = 2NC^{2\alpha + 2\beta}$$

Donde:

$NC = Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta}$

$\alpha = 0.05$

$\beta = 0.10$

$$NC = 1.645 + 1.282$$

$$NC = 2.927$$

$$A = 0$$

Por tanto:

$$n_j = 2NO^2/2$$

$$n_j = (2,972)^2/2 = 4.8 \text{ (aproximadamente 5)}$$

~~La investigación se llevó a cabo con un número de 10 ratones hembras por grupo, tanto para el control como para el tratamiento. Se eliminaron del análisis aquellas que murieron durante el tratamiento.~~

- Análisis de datos

~~Se efectuó en dos partes:~~

~~1. Se utilizó una prueba estadística de hipótesis para determinar actividad tpanostática por parte de la planta **Solanum hartwegii**, las dos hipótesis estadísticas son las siguientes:~~

$$H_0: u_1 \geq u_2$$

$$H_a: u_1 < u_2$$

Donde

~~u₁ = grupo con planta~~

~~u₂ = grupo control~~

~~Si H₀ se rechaza indica que la planta disminuye la parasitemia.~~

~~El Estadístico de Prueba que se calculó a partir de los resultados obtenidos fue una "t de pendientes" ya que $n_j \leq 30$ y las curvas solo se comportaron en forma similar durante los primeros 25 días de del estudio.~~

~~2. La determinación de la transmisión congénita de **T. cruzi** se efectuó según una respuesta dicotómica (positivo o negativo) donde el grupo bajo tratamiento y el grupo control son independientes o no relacionados, para lo cual se utilizaría Chi cuadrado.~~

VIII. RESULTADOS

A. Curva de Parasitemia de *Solanum hartwegii*

La ~~grace~~ 1 (ver anexos), muestra la comparaciOn de las curvas de parasitemia de ~~*T. cruzi*~~ entre el grupo de experimentaciOn y el grupo control. En el dia 14 la ~~grafica muestra una diferenciacion del numero de parasites de cada curva, la cual se va acentuando hasta el dia 25, que es el dia de maxima parasitemia para el grupo experimental (138,957 tripomastigotes/ml) (Ver Table 1, anexos).~~

A partir del dia 26 el comportamiento de cada curva es distinto. Los ~~controles exhiben un periodo de estancamiento de sus parasites que se mantiene hasta el dia 35, luego comienza a elevarse nuevamente el numero de tripomastigotes/ml teniendo este grupo su parasitemia maxima el dia 37 (373,486 tripomastigotes/ml) (Ver table 1).~~

~~Despues de este dia se observe un descenso brusco de la parasitemia hasta el dia 46 en que se finalice esta parte del estudio. Se observe entonces en el grupo control un comportamiento de crecimiento de los parasites similar al crecimiento de las bacterias en condiciones normales.~~

~~Por su parte el grupo experimental mostr6 un descenso paulatino de la parasitemia a partir del dia 25 hasta el dia 46.~~

Es importante hacer notar que a partir del dia 14 la parasitemia del grupo ~~experimental fue siempre menor que la del grupo control, conservandose asi los siguientes 32 dias del estudio. Tambien se puede observar que el crecimiento de la parasitemia en ambas curvas hasta el dia 25 es logaritmico.~~

Como se muestra en la grafica 1 el comportamiento de las curvas a partir del ~~dia 25 es diferente. Es por ello que se realice) un analisis estadistico de '1' de~~

~~pendientes hasta ese día. El resultado de esta prueba estadística indicó que la tasa de crecimiento (concentración de paritsitos/tiempo) no se ve afectada por la utilización de *Solanum hartwegii*, demostrando que no hay un efecto tripanocida de la planta con esas condiciones y a esa concentración.~~

~~Las graficas 2 y 3 (ver anexos), muestran en formas de cajas de tukey la enorme variación que hubo dentro de ambos grupos, sobre todo del día 21 al día 25 lo que repercutió en el resultado del estadístico "t" de pendientes.~~

B. Seropositividad de la primera descendencia

~~Ningún individuo tanto del grupo control como el experimental mostró parasitemia en los cinco conteos que se realizaron durante mes y medio. Este modelo experimental no fue adecuado para observar parasitemia y por lo tanto no se pudo aplicar ningún modelo estadístico que indicara el efecto de *Solanum hartwegii* sobre la primera descendencia de los ratones hembras sometidos al estudio.~~

~~Un dato interesante fue que los ratones hembras a las cuales se les administró la infusión en su mayoría no tuvieron ninguna descendencia (4/7) en comparación con los ratones hembras control (0/7). En general los dos grupos tuvieron un promedio de dos crías por cada ratón panda.~~

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

La enfermedad de Chagas es un importante problema de salud pública en Guatemala: Se estima que 3,400,000 de personas, 34% de la población total, esta en riesgo de infección. Las personas infectadas con *Trypanosoma cruzi* tienen parasitemia de por vida. Sin embargo, la mayoría pasa desapercibido que esta infectado, y aproximadamente 30% de ellos en el futuro desarrollen las manifestaciones clínicas de la enfermedad crónica de Chagas. El tratamiento en la fase aguda es crítico pues es la única fase cuando se ha establecido claramente que la infección puede ser eliminada (50)

La quimioterapia disponible hasta el momento se limita a dos medicamentos (Nifurtimox y Benzonidazole); a los cuales poseen una enorme cantidad de efectos adversos, no se consiguen fácilmente, son de riesgo en embarazadas y su costo es excesivo e inalcanzable para la población en general. Es por ello que se evaluó la acción de la infusión de las fibras de la planta *Solanum hartwegii* con el fin de demostrar su efecto tripanocida sobre *T. cruzi*. Este estudio se realizó en ratones hembras embarazadas y su primera descendencia. En la primera fase se infectaron 10 ratones hembras, posteriormente se dividieron en dos grupos de cinco cada uno. Al primer grupo se le administró una infusión de *Solanum hartwegii* y al segundo grupo, agua como control. En ambos grupos se evaluó la parasitemia en días alternos por 45 días. En la segunda fase se evaluó la parasitemia de la primera descendencia de todos los ratones hembras por mes y medio, iniciando al octavo día de su nacimiento.

La razón de evaluar esta planta es debido a que es una planta silvestre bastante común en el país, la cual había sido evaluada solamente una vez por Yapur (1994), quien concluyó en dicha evaluación que *S. hartwegii* mostraba un efecto tripanostático sobre *T. cruzi* (5).

Al igual que en el estudio de Yapur (1994) se puede observar que existe una disminución en la curva de parasitemia de los ratones hembras tratadas respecto a la de los ratones hembras control (gráfica 1, anexos).

A diferencia del estudio de Yapur, en el cual no fue posible realizar un análisis estadístico confirmatorio de la actividad tripanocida de la planta, este estudio comprueba que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la parasitemia de los ratones hembras control y los tratados (5). Como se aprecia en la gráfica 1, ambos grupos de estudio exhibieron un comportamiento similar solamente durante los primeros 25 días del estudio. Por ello se utilizó este periodo para el análisis estadístico a través de una t de pendientes.

A lo largo del estudio, todos los ratones, tratados y no tratados, exhibieron entre ellos una amplia variación en el número de parásitos/ml respecto a un día en particular, la cual se muestra en las gráficas 2 y 3 (ver anexos). Además, se puede apreciar en estas gráficas que esta variación se incrementa paralelamente con la parasitemia. Este fenómeno se observa tanto en los ratones control como los ratones tratados.

Aunque se utilizaron ratones de la misma camada respondieron de manera distinta a la infección. Por ejemplo en el día pico de parasitemia del grupo bajo tratamiento (día 25), en el que el promedio fue de 138,957 parásitos/ml, el ratón hembra con menor parasitemia reportó 13,500 parásitos/ml y el ratón hembra de mayor parasitemia reportó 372,200 parásitos/ml. En el caso del grupo control, en su día pico de parasitemia (día 37) la variación también es enorme. Aunque en promedio tuvieron una parasitemia máxima de 373,486 parásitos/ml, el ratón hembra con menor parasitemia reportó 10,200 parásitos/ml y el ratón hembra de mayor parasitemia reportó 986,400 parásitos/ml. Ante estos resultados, la *vatlad* presenta características de tipo inmunológico.

Ademas, existe la variabilidad *per se* de un estudio *in viva*. En un estudio *in vitro* llevado a cabo por *Matta V y col.* (1996) la cepa de ***T. cruzi*** MHOM/GT/94/SMI-04, utilizada tambien en este estudio, mostrO su pico de parasitemia en el dia 14 con un recuento de 4.11×10^{-5} parasitos/ml y no en el dia 37 con un recuento de 3.7×10^{-5} parasitos/ml, como en este estudio. Es de hater notar que en dicho estudio, la metodologia estipula rnicamente 21 dias de observaciOn. Aun asi, el primer pico de parasitemia *in vivo b* muestra el control hasta el dia 25 y no en el 14 como el estudio *in vitro* (52).

Otro factor que influy6 en las curvas de parasitemia fue el mismo hecho de que los ratones hembras estuvieran embarazadas. Asi lo demuestra *Meneses CA y col.* (1992), al cuantificar parasitemia en mujeres portadoras de ***T. cruzi*** durante y despues de la gestaciOn. Ellos concluyen que durante el embarazo la frecuencia de xenodiagnOsticos positivos fue mayor asi como los niveles de parasitemia, sugiriendo que en ese periodo ocurre una exacerbaciOn de la infecciOn (53).

Por otro lado, no se han llevado acabo estudios fitoquimicos de ***Solanum hartwegii*** que describan sus componentes activos y su naturaleza, por lo que se desconoce el solvente idoneo para extraerlos. Debido a ello seria conveniente repetir el estudio utilizando otros solventes como lo hizo *Berger y col.* (1996), en donde ademas de agua se trabajO con n-hexano y etanol al 95%. Los extractos de estos 6ltimos solventes mostraron una mayor efectividad en la mayoria de los casos que el agua (54).

En otro estudio sobre la actividad antimicrobiana de 21 plantas nativas usadas para tratar infecciones por protozoarios en Guatemala (incluyendo ***T. cruzi***), *Caceres y col.* (1996) encontraron que en ***Solanum americanum***, quilete (del mismo genera que la utilizada en este estudio), 6nicamente el extracto alcohOlico de esta planta mostrt actividad anti-tripanosOrnica, tanto *in vivo como in vitro*, no asi los extractos acuosos (55).

En cuanto a la evaluación del efecto tripanostático de la planta sobre la primera descendencia, se debe admitir que el método experimental utilizado no es el más adecuado a utilizar en neonatos. Así lo comprueba Russomando G y col (1998), quienes concluyeron que la técnica de PCR posee una clara ventaja sobre la técnica de observación directa al microscopio. Ellos observaron que de 1,022 muestras, un 10.5% de recién nacidos eran serológicamente positivos con PCR, mientras que por conteo de tripomastigotes en sangre al microscopio únicamente un 3% presentaron dicha condición (56). Villegit' (1993) realizó un estudio de seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en el grupo materno-infantil del municipio de Santa María Ixhuatan, departamento de Santa Rosa, encontrando que de seis recién nacidos de madres chagásicas, tres presentaban signos clínicos de la enfermedad. Dos de los neonatos normales presentaron exclusivamente IgG anti *T. cruzi*. Sin embargo, ninguno de los seis neonatos fue serológicamente positivo por métodos parasitológicos. Villagran sugirió en su estudio efectuar otras técnicas de diagnóstico tales como PCR para descartar en forma definitiva la transmisión congénita (57). Lorca M y col (1991) realizaron un diagnóstico serológico de las infecciones congénitas por *T. cruzi* sus resultados confirman que el ensayo de enzima ligado al inmisorbente ELISA es más sensible que la prueba de anticuerpo inmunofluorescente IFAT y otras pruebas (58).

Otro factor que pudo afectar en los resultados del método experimental realizado en los neonatos, es lo que Biocca y col (1972) comentan en su artículo: "Prevalencia de la infección de Chagas en embarazadas" en el cual atribuyen el fallo en la identificación de casos de transmisión congénita a la utilización de tamarcos de muestra muy pequeños y/o a la exclusión de casos de muerte intrauterina (21).

Aunque no se encuentran estudios farmacológicos propiamente sobre *Solanum hartwegii* se sabe que *Solanum americanum* y *nigrescens* (Mill) tienen cierta actividad inmunomoduladora en ratones, la cual se mide por el aumento en la población de linfocitos y en los títulos de anticuerpos séricos. De poseer *S.*

~~*hartwegii* el mismo efecto, podría ser la explicación del mecanismo de acción que utiliza la planta para disminuir la parasitemia en sangre. (59).~~

~~Es necesario discutir el posible efecto anticonceptivo de **S. hartwegii**, ya que los ratones hembras que estuvieron bajo tratamiento, en su mayoría no tuvieron crías (4 de 7), a diferencia de los ratones hembras control (7 de 7). Estudios realizados con **Solanum paniculatum** (L) demuestran que esta planta posee una actividad estimulante del Otero en cobayos y ratas. Así también a **Solanum sisymbriifolium** (Lam) se le atribuyen propiedades abortivas y se usa para regular la fertilidad (59).~~

~~Por ser **Solanum hartwegii** del mismo Orem que las anteriores, puede sugerirse la presencia de compuestos que posean estas mismas propiedades.~~

X. CONCLUSIONES

1. La infusión de *Solanum hartwegii* no tiene efecto tripanocida estadísticamente significativo sobre ratones hembras preñadas durante los primeros 25 días de tratamiento y a una concentración de 1000 mg/Kg de peso.
2. El modelo experimental de conteo directo de tripomastigotes de *T. cruzi* en sangre, utilizado para evaluar la parasitemia en la primera descendencia, no es el adecuado para demostrar el efecto tripanocida de *S. hartwegii*.
3. Las curvas de parasitemia muestran que la infusión de *S. hartwegii* posee cierto efecto tripanostático sobre ratones hembras preñadas infectados con *Tripanosoma cruzi* a lo largo de los 43 días del estudio.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de toxicidad de ***Solanum hartwegii*** para determinar la dosis letal media de la planta.
2. Investigar otros solventes accesibles e inocuos que puedan ser utilizados ~~para extraer el o los posibles agentes tripanosteticos de ***Solanum hartwegii***.~~
3. ~~Realizar estudios fitoquimicos sobre ***Solanum hartwegii*** para identificar el metabolito secundario con posible efecto tripanostático.~~
4. Utilizar un modelo experimental alternativo para investigar el efecto de la ~~infusion de ***Solanum hartwegii*** en neonatos. Algunos de estos métodos ~~sedan el estudio citológico de sus Organos yto ELISA.~~~~
5. Realizar estudios sobre el efecto anticonceptivo de ***Solanum hartwegii***.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Tnowitz, Herbert, B. *et at Chagas Disease.* Clinical Microbiology Reviews. 1992; 5(4): 400-419.
2. Yves Carter *et at Pregnancy and Humoral Immune Response in Mice Chronically Infected by *Tripanosoma cruzi*.* Infection and Inmunity. 1987; 55(10) 2496.
3. Hemandez Jorge. **Relation entre el grado de parasitemia de dos cepas Guatemaltecas de *T. cruzi* y el tropismo celular.** Guatemala: Universidad de San Carlos. (Tesis de Graduacion, Facultad de ciencias Quimica y Farmacia)1996. p.4-5.
4. Orduna, Tomes. **Enfermedad de Chagas-Mazza.** Temas de Patologia Infecciosa. Mexico: Editorial Interamericana 1990 405 p. (Cap. 28 p 237.)
5. Yapur, Ana Luisa **Efecto de Infusiones de *Jacaranda momosifolia*, *Neurolaena lobata* y *solanum harweggi* sobre curvas de parasitemia de *Tripanosoma cruzi* en ratones.** Guatemala: Universidad de San Carlos. (Tesis de Graduation, Facultad de ciencias Quimica y Farnacia) 1994 p.51
6. Bittencourt Achilea. **Possible risk factors for vertical trannsmissions of chagas disease.** Rev. Inst. Trop. Sao paulo.1992; 34 (5): 403-408.
7. Bittencourt, A.L. American trypanosomiasis (Chagas disease) In MacLeod, C. **Parasitic infection in pregnancy and the newborn.** Oxford, Oxford Med. Pub., 1988; 28(2): 62-86
8. Oswaldo Cruz, Rio de janeiro Supl.1986; 81: 207-209.
9. Bittencourt A L Medina, **M.D. & Camargo, M.F. Doenca de Chags F.A.C. Inteccoes congenitas e perinatais. Sao Paulo, Atheneu,** 1991 p.73-89
10. Azougue, E & Urioste, G. **Transmision congenita de la enfermedad de Chagas III. aspectos clinicos y anatomopatologicos del recién nacido.** Bol dent. CENETROP. 1985; 11:21-30.
11. PAHO **La enfermedad de Chagas y el gönero. Bo.** Oficina Sanit. Panam. 1996; 121(3): 274-277.

- ~~12. Medina-Lopez, M.D. **Transmisien materno-infentil de la enfermedad de Chagas.** Universidad de Brasilia. (Tests de maestria) 1983 p.33-35.~~
- ~~13. Bittencourt, A.L. **Doenca de Chagas congenitas na Bahia.** Rev baiana Salida publ. 1984; 11: 159-209.~~
14. Brabin B.J. **Epidemiology of infection in pregnancy.** Rev. Infect. Dis. 1985; 7: 579-603.
- ~~15. Delgado M.A. & Santos C.A. **Transplacental transmission and fetal parasitism of *Trypanosoma cruzi* in outbred white Swiss mice.** Amer. J. trop. Med. Hyg. 1978; 27:1108-1115.~~
16. Dvorak, J.A. & Postan M.L. **Estudios sobre la infeccien de ratones endogimicos con *Trypanosoma cruzi*.** Bol. Ofic. Panam. 1987; 103:93-95.
17. Bittencourt. A.L. & Gomez, M.C. **Gestacoes sucessivas de uma paciente corn ocorrencia de casos de casos de transmissao congenita da doenca.** Gaz. Med. Bahia 1967. 67:166-172 Bittencourt, A.L. Review: Congenital Chagas disease. Am. J. Dis. Child. 1976; 130: 97-99.
- ~~18. Arteaga-Fernandez E Barreto A C P Vianna C.B. et. al. **Incidencia da transmissao congenita na doenca de Chagas.** Arq. Bras. Cardiol. 1987; 49:47-49.~~
19. Azogue, E. La FuJi ite, C. & Oorras, C. **Congenital Chagas disease in Bolivia:epidemiological aspects and pathological findings.** Trans. R. Sac. Trop. Med. Hyg. 1985; 79:176-180.
- ~~20. Bittencourt, A.L.Vieira, G.O. Tavares, N.C. et. al. **Esophageal involvement in congenital Chagas disease.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 1984; 33: 30-33.~~
- ~~21. Biocca, A. & Sequeira, H. **Prevalencia de infeccien de Chagasica en embarazadas. In: Congreso Argentino de Parasitologia I** memorias. Buenos Aires 1972 p.43.~~
- ~~22. Stomi P & Bolsi, R.L. **Embarazo y parasitismo por *Trypanosoma cruzi*.** Medicina. Buenos Aires. 1979. 39:193-197.~~

23. DeTercero C et, al. **Amastigotes de *T. cruzi* en la placenta de recién nacidos con enfermedad de chagas congenita..** Enfermedades Tropicales en Guatemala 96 JICA Informe Anual No. 5 Agenda de Cooperación Internacional de Japan. Guatemala 1996 p.114.
24. De Tercero C. **Congenital Chagas Disease: Correlations between clinical manifestations and serological reactivity to *T. cruzi* peptides and laminin.** Stokholm. Sweden: The Karolinska International Research Training Program (Tesis de Maestria) 1990 p.47.
25. Andrade, S.G. **The influence of the strain of *Trypanosoma cruzi* in placental infections in mice.** Trans. roy. Soc. Trop. Med. Hyg.1982; 76:123-128.
26. Bittencourt, A.L. & Barbosa H.S. **Incidence da transmissão congenita da doença de chagas em abortos.** Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo,1972; 14:257-259.
27. PAHO **Situación de la enfermedad de Chagas en las Americas.** Bol. Epidemiol. 1984; 5(2):5-9.
- ~~28. Cartier, Y. Rivera M.T. Truyens, C et al **Interactions between chronic murine *Trypanosoma cruzi* infection and pregnancy: fetal growth retardation.** Am. Trop. Med. Hyg.1987;37(3):534-540.~~
- ~~29. Loke, Y.W. **Transmission of parasites across the placenta.** Adv. Parasitol.1982;21:155-228.~~
- ~~30. Georges P Redbook **Enfermedades Infecciosas en Pediatría.** 22 edición Editorial Panamericana 1992. P. 420-422~~
- ~~31. JICA. Varios autores. **Estudio Seroepidemiológico de la Enfermedad de Chagas;** conferencia de proyecto para la investigación de enfermedades tropicales. Editor Yuichiro Tabaru. Informe No. 3. 1994.~~
- ~~32. De Gomdz C. **Serology in Chagas Disease. A comparative study in human and experimental infections.** Stokholm, Sweden: The Karolinska International Research Training Program (Tesis de Maestria) 1990; p. 27-29.~~

33. Platero, D. **136squeda de *T. cruzi* po medio de xenodiagnostico en muestras de sangre de donantes en pacientes con sospecha de enfermedad de Chagas.** memorias VIII Congreso Latinoamericano de parasitologia. Guatemala 1987 p. 301
34. Soto, Ch. **G.Incidencia de infeccien por *T. cruzi* en nitios febriles menores de 10 afios** Guatemala Universidad de San Carlos(Tesis de graduaci6n, Facultad de medicina) 1998. p. 21-24.
35. De Jawetz. Meinick & Adelberra. **Microbiologia medica: Trypanosoma.** 14ava. ediciOn. el manual moderno. Mexico 1992. p. 367 y 383.
36. Asencio, G. **Relevance of antibodies to Trypanosoma cruzi.** Stockolm, Sweden: The Karolinska International Research Training Program (Tesis de Maestria).1992. 56p.
37. Vales, H.A. **Fundamentos de medicina: Enfermedades Infecciosas; trypanosomiasis.** 4ta ediciOn. CorporaciOn para Investigaciones BiolOgicas. Medellin Colombia. 1994. p. 217-221.
38. Litter, M. **Farmacologia Clinica y Experimental.** 7ma ediciOn. el Ateneo. Buenos Aires. 1986. p. 1702-1703.
39. Reyna, F. **Detecci6n de infeccien congenita por *T. cruzi* en recien nacidos de bajo peso al nacer.** Guatemala. Universidad San Carlos. (Tesis de graduaciOn, Facultad de Medicina) 1991 p. 65
40. Aguilar, F. **Parasitologia de Aguilar: Trypanosoma cruzi.** 3ra ediciOn. Guatemala. 1991. p. 245-261.
- ~~41. Brown, H. Neva, F. **Parasitologia Clinica.** 5ta ediciOn Ed Interamericana Mexico. 1985. p.360.~~
- ~~42. Phillipson, D. Wrigth, C. **Medicinal plants in tropical medicine. 1. Medical plants against protozoal diseases.** Trans. Royal Soc. Trop Hyg. 1991; **85: 18-21.**~~
43. **Medinilla, B. Evaluation farmacolOgica y toxicologica in vivo de algunas plantas comunmente empleadas en Guatemala contra la malaria.** Guatemala. Universidad de San Carlos(DirecciOn General de InvestigaciOn, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia)1992 .42p.

44. Foumett, A. et al. **Activite antiparasitaire d'alcaloides bisbenzylisoquinoleiques. II. Activite *in vitro* sur des epimastigotes de trois souches typifiees de *T. cruzi*.** J. Ethnopharmacol. 1988; 24:337-343.
45. 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.
46. De Arias, A. et al. **Trypanocidal activity of natural products against blood trypomastigote forms of *T. cruzi*.** Annual Reports, IICS 1991. 121-135.
47. Ocampo, R.A. Moffioli, A. **El use de las plantas medicinales en costa Rica.** El Dioscarides Renovado 1985. p. 40-41.
48. Gentry, J. Stanley, P. **Flora of Guatemala: Fieldiana Botany.** 1974. Vol 11: 205-207.
49. Morton, J.F. **Atlas of Medicinal Plants of Middle America.** USA: Illinois. 1981. p. 804, 805 y 949.
50. World Health Organization. **Control of Chagas disease: report of a WHO expert committee.** 1991. WHO Technical report Ser 811:1-95
51. Takehara HA, et al. ***Trypanosoma cruzi*: role of different antibody classes in protection against infection in the mouse** Ep Parasitol. 1981, 42 (1) 130-140.
52. Matta V et, al. **Caracterizaci3n de las cepas de *T. cruzi* aisladas en Guatemala.** et,al. Enfermedades Tropicales en Guatemala 96 JICA Informe Anual No. 5 Agenda de Cooperaci3n Internacional de Jap3n. Guatemala 1996 p.42-51
53. Menezes CA Et al. **The assessment of parasitemia in women who are carriers of *Trypanosoma cruzi* infection during and after pregnancy.** Rev Soc Bras Med Trop 1992 Apr-Jun; 25 (2):109-13
54. Berger I et, al. **In vitro activity of five medicinal plants commonly used in Guatemala and some of their fractions against the trypomastigote and epimastigote form of *trypanosoma cruzi*** Enfermedades Tropicales en Guatemala 96 JICA Informe Anual No. 5 Agenda de Cooperaci3n Internacional de Jap3n. Guatemala 1996 p.118-125

55. Caceres A et,al. **Actividad antimicrobiana de 21 plantas nativas usada para tratar infecciones por protozoarios en Guatemala.** Enfermedades Tropicales en Guatemala 96 JICA. Informe Anual No. 5 Agenda de CooperaciOn Internacional de Jap6n. Guatemala 1996 p.52-66
56. Russomando G **etal.Treatment of Congenital Chagas'disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction.** Am J Trop Med Hyg, 59: 487-91, 1998
57. Villagran C, et al. **Prevalencia de Enfermedad de Chagas en el Grupo Materno-Infantil del Municipio de Santa Maria Izhuatan en el Periodo de ~~Mario a Abril de 1993.~~** Enfermedades Tropicales en Guatemala 96 JICA. Informe Anual No. 2 Agenda de CooperaciOn Internacional de JapOn. Guatemala 1993 p.104-106
58. Lorca M, Thierman E. **Serological diagnosis of congenital infection with *Trypanosoma cruzi*.** Rev Chil Pediatr 1991. Nov-Dec; 62 (6): 337-44.
59. Bello A et, al. **270 Plantas medicinales Iberoamericanas** CYTED Programa ~~Iberoamericano de Ciencia y Tecnologia para el desarrollo. Subprograma de~~ Quimica Farmaceutica. 1°ediciOn Colombia 1998. P. 529-536

XIII. ANEXOS

Gniflea 1: ComparaciOn de Curvas de Parasitemla

as0000

E 250000

a 200000

•
O
it

150000

100000

-F-0--- No tratadas

- - - - - Tratadas

7

9

11

14

16

21

23

25

28

30

32

35

37

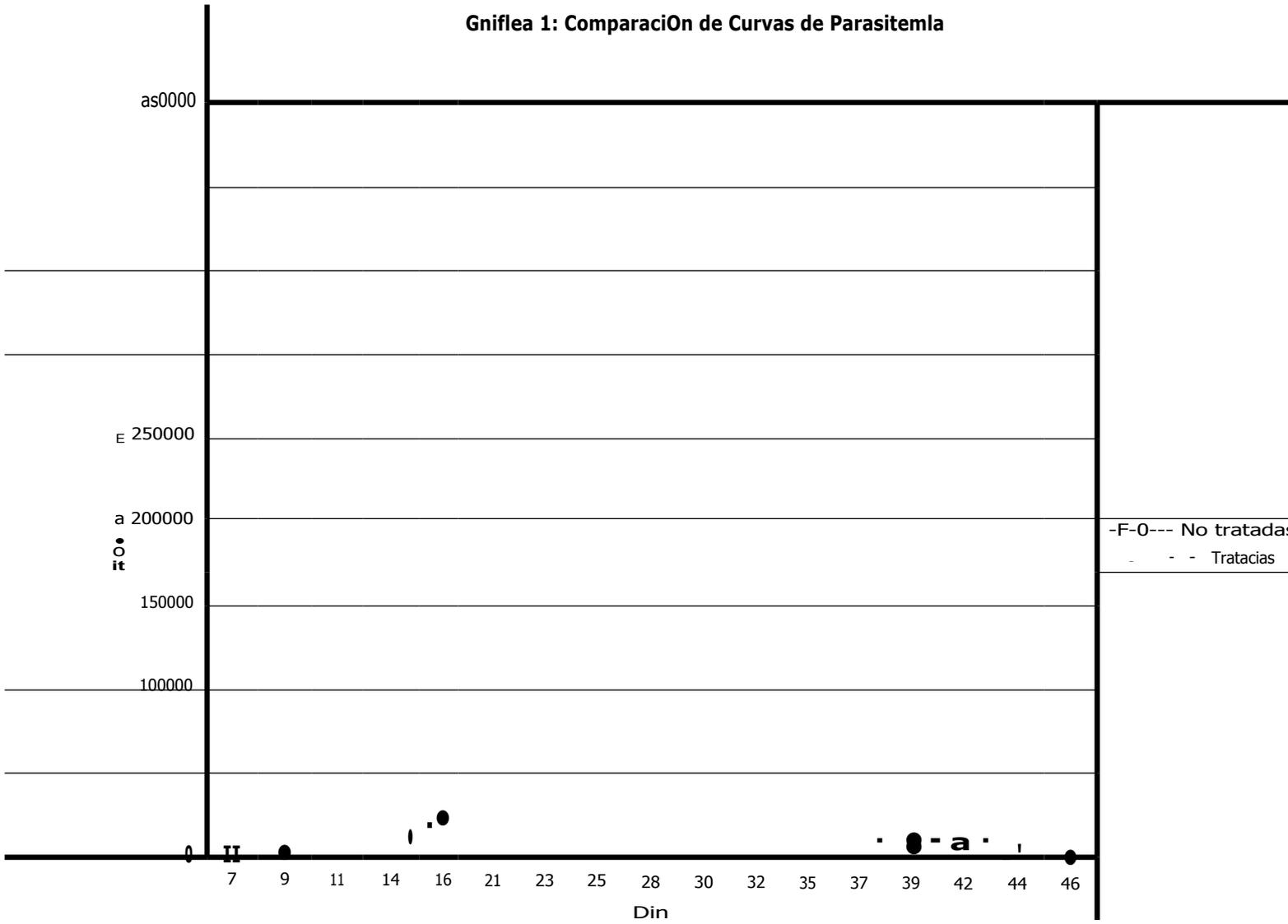
39

42

44

46

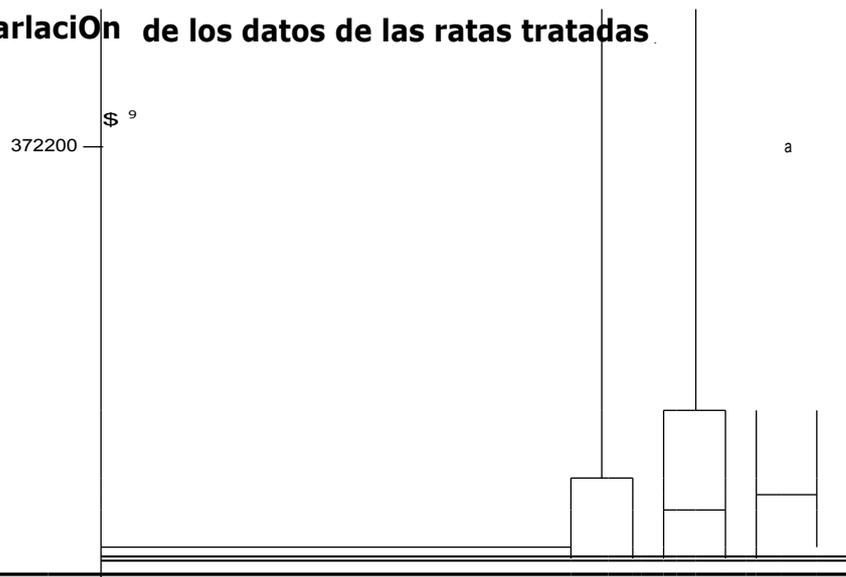
Din



labia 1: Medias de Parsitemia

Dias	# parisitos/m1 Tratadas	# paresitos/m1 No tratadas
7	314	200
9	543	343
11	1286	814
14	6057	6743
16	22171	14914
21	56514	34786
23	104514	94429
25	138957	143186
28	74171	204257
30	68686	172957
32	43843	215429
35	28629	214943
37	20543	373486
39	11443	186457
42	12943	63457
44	2514	17514
46	943	31171

Gráfica 2: Variación de los datos de las ratas tratadas



Gráfica 3: Variación de los datos de las ratas no tratadas

