

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



**EFFECTO TRIPANOSTÁTICO DE SOLANUM HARTWEGII
SOBRE DOS CEPAS DE TRYPANOSOMA CRUZI
DE ALTA Y BAJA PARASITEMIA**

Informe de Tesis

Presentado por
DELMY VERÓNICA PAJARES MENA

Para optar al título de
QUÍMICA FARMACÉUTICA

Guatemala, noviembre de 1,999

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CC.QQ. 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 DARIEL VELASQUEZ MIRANDA
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. DAVID ESTUARDO DELGADO GONZALEZ
VOCAL V	BR. ESTUARDO SOLORZANO LEMUS

DEDICATORIA

A DIOS	por TODO
A Ana María Mena	por ser mi madre, mi guía y mi amiga
A Conrado Guínea Diaz	por ser mi otro yo, mi complemento perfecto
A Jorge Pajares Mena y Alejandro Samayoa	por ser mis amigos y hermanos

AGRADECIMIENTOS

A la Agencia Internacional de Cooperación del Japón (JICA), por el apoyo financiero para la realización de este proyecto.

Al Departamento de Zoología de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, por el uso de sus instalaciones y equipo.

A Msc. Carlota Monroy y Licda. Antonieta Rodas por su asesoría y apoyo.

A Conrado Guinea, Salvador Lou y Mario Díaz por su colaboración en la recolección de la planta utilizada en este trabajo de tesis.

ÍNDICE

1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCIÓN	2
3.	ANTECEDENTES	
	A. Enfermedad de Chagas	3
	1. Generalidades	3
	2. Transmisión	3
	3. Otras formas de infección	4
	4. Manifestaciones clínicas	4
	5. Tratamiento	5
	B. <i>Trypanosoma cruzi</i>	
	1. Morfología y ciclo de vida	5
	C. Huiz	7
	1. Descripción de la planta	7
	2. Origen y distribución	7
	3. Usos medicinales	7
	4. Otros estudios sobre Solanaceae	8
	D. Estudios anteriores	8
4.	JUSTIFICACIÓN	10
5.	OBJETIVOS	11
	A. General	11
	B. Específicos	11
6.	HIPÓTESIS	12
7.	MATERIALES Y MÉTODOS	
	A. Universo de trabajo	13
	B. Muestra	13
	C. Recursos	
	1. recursos humanos	13
	2. recursos institucionales	13
	3. recursos materiales	13
	D. Procedimiento	
	1. reproducción del parásito	14
	2. recolección de la planta	15
	3. extracción	15
	4. administración	15

5.	determinación de la acción tripanostática	15
6.	análisis estadístico	16
8.	RESULTADOS	17
9.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	23
10.	CONCLUSIONES	26
11.	RECOMENDACIONES	27
12.	REFERENCIAS	28
13.	ANEXOS	30

1. RESUMEN

La enfermedad de Chagas tiene una amplia distribución en nuestro país. Esta enfermedad causada por la infección de un protozoo llamado *Trypanosoma cruzi* provoca lesiones en el corazón y cerebro humano. La misma es transmitida por un vector conocido como "chinche picuda". Los medicamentos utilizados para el tratamiento de esta enfermedad son de alto costo, siendo inaccesibles para la mayoría de la población, además de tener efectos adversos de consideración.

En Guatemala las plantas se utilizan ampliamente con fines medicinales, debido a su fácil obtención y bajo costo. Entre ellas se encuentra el huiz (*Solanum hartwegii*, Solanaceae), al cual se le atribuyen propiedades antiinfecciosas en oídos y nariz (16). El huiz fue estudiado por Yapur en 1994, y demostró cierta actividad tripanostática (2).

En el presente estudio se llevó a cabo para determinar si el huiz (*Solanum hartwegii*, Solanaceae) posee efecto tripanostático sobre *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas. En el estudio se emplearon dos cepas diferentes de Chagas, una de alta parasitemia y una de baja. Para ello se infectaron cuatro grupos de ratones de 10 individuos cada uno. A dos grupos se les administró infusión de las flores de huiz y los otros dos grupos fueron control. Se realizaron curvas de parasitemia por medio de conteos de parásito en sangre a partir del séptimo día de infección.

En la cepa de alta parasitemia (MHOM/GT/94 SMI-04) el estudio duro más días de lo planteado en el modelo experimental, de 35 días se prolongo a 42 días. Esto se debió a que los niveles de parasitemia no disminuían. El estudio se finalizó cuando el 50% de los individuos tratados con infusión presentaban cero parásitos en sangre.

Para la cepa de baja parasitemia (ITD-GT/97/DPM) el estudio se realizó en los 35 días previstos, con el 50% de los ratones con niveles de parasitemia de cero.

En ambas cepas, los resultados obtenidos fueron variables. Se obtuvieron al menos dos picos de parasitemia durante el desarrollo de las cepas y no existió crecimiento exponencial como era lo esperado. Por ello se concluye que no existe relación estadísticamente significativa entre las variables tiempo y nivel de parasitemia, en ninguno de los grupos estudiados. Esto no permitió realizar el analisis estadístico planteado por lo que los resultados no fueron concluyentes, y solamente se presentó y analizó su comportamiento por medio de gráficas de "caja de Tukey".

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es el resultado de la infección por un protozoo flagelado llamado *Trypanosoma cruzi*, que causa lesiones notables en el corazón y cerebro humano, y que es transmitido por un vector conocido comúnmente como "chinche picuda". El vector habita y se reproduce en las grietas de paredes y techos de los lugares de habitación contruidos de paja, paredes de bajareque y adobe crudo recubiertos de hojas secas de banano. La transmisión se ve favorecida por la convivencia y promiscuidad con animales domésticos. Esta enfermedad está asociada a personas de baja condición económica y de hábitos higiénicos deficientes (1,2).

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas tiene una amplia distribución en Centro y Sudamérica. En nuestro país los departamentos más afectados son: Jutiapa, El Progreso, Santa Rosa, Chiquimula, Zacapa, Baja Verapaz y Escuintla (3-6).

En Guatemala las plantas medicinales son ampliamente utilizadas, debido a su fácil obtención y bajo costo, comparado con la medicina química.

En este trabajo de tesis se evaluó el efecto tripanostático de la infusión de las flores del huiz (*Solanum hartwegii*), por medio de curvas de parasitemia, sobre dos cepas causantes de la enfermedad de Chagas en Guatemala, utilizándose para ello un grupo control y un grupo experimental de ratones inoculados artificialmente con las cepas. Una de estas cepas, produce niveles altos de parasitemia (MHOM/GT/94 SMI-04) y la otra, niveles muy bajos (ITD-GT/97/DPM). De esta forma se pudo cuantificar la acción de esta planta, sobre cepas de comportamiento totalmente diferente.

3. ANTECEDENTES

A. ENFERMEDAD DE CHAGAS

1. Generalidades

El 9 de abril de 1909 el científico brasileño Carlos Chagas descubrió en el estado Minas Gerais, Brasil, un parásito flagelado en el intestino de los insectos hematófagos que causa la tripanosomiasis americana, conocida desde unos años después como la enfermedad de Chagas (1). El nombre dado a este protozoo fue *Trypanosoma cruzi* en honor al profesor Oswaldo Cruz.

Los vectores de la enfermedad de chagas son distintas especies de chinches triatominas de la subfamilia Triatominae tales como *Triatoma infestans* y *Triatoma dimidiata*, las cuales son hematófagas (7). El parásito es transmitido a través de las heces de las chinches.

La tripanosomiasis americana está limitada al continente americano. La infección a humanos se encuentra distribuida desde México hasta Argentina (2).

En 1932, Reichenow, del Instituto Tropical de Hamburgo, descubrió en Guatemala los primeros casos, en el departamento de Santa Rosa. Desde entonces muchos investigadores se han dedicado al estudio de esta enfermedad. Los departamentos endémicos son: Jutiapa, El Progreso, Santa Rosa, Chiquimula, Zacapa, Baja Verapaz y Escuintla (3-6).

2. Transmisión

La forma de transmisión más importante es la causada por el vector.

El vector de la enfermedad de chagas es un insecto triatomino perteneciente a la familia reduvina en Guatemala, conocido comunmente con el nombre de "chinche picuda" (picudo, talaje y telépate). El vector habita en construcciones de bajareque, en lugares oscuros o huecos de árboles y nidos de animales silvestres. El ciclo se lleva a cabo en el este vector y un huésped

vertebrado, que puede ser el humano, perros, gatos, roedores, etc. Las especies más importantes de triatomíneos que transmiten la enfermedad son: *Pastrongylus megistrus*, *Triatoma dimidiata*, *T. infestans*, *T. nitida* y *Rhodnius prolixus* (2,8).

Las chinches se infectan al ingerir tripomastigotes de la sangre de mamíferos infectados. Los parásitos se multiplican en forma de epimastigotes en la luz del mesogastrio de los insectos, después de un período de 15 a 30 días. Su proliferación conduce a formación de los tripomastigotes metacíclicos en el recto del triatomino (2).

El insecto pica de preferencia en la cara y zonas de transición entre la epidermis y mucosas. Luego de succionar la sangre, el intestino de la chinche expele heces fecales contaminadas, las cuales contienen el parásito en forma infectiva (tripomastigotes), empezando la infección en los nuevos huéspedes al penetrar por las abrasiones de la piel o de las membranas mucosas. Esta transmisión se denomina como estación posterior o por contaminación (9).

3. Otras formas de infección

En los humanos el *Trypanosoma cruzi* se transmite por contaminación con las heces de las chinches. La transmisión del parásito se puede efectuar a través de transfusiones sanguíneas, en forma congénita o contacto accidental con la sangre de animales infectados (2).

4. Manifestaciones clínicas

La enfermedad de Chagas tiene dos fases: aguda y crónica. Estas están separadas por un período indeterminado de tiempo (10).

Luego del contacto con el parásito, prosigue la fase aguda. Esta fase suele no ser evidente y generalmente no es diagnosticada. Los síntomas comunes son: diarrea, malestar y taquicardia (1). En algunos casos existe evidencia de la entrada del parásito, presentándose un área eritematosa de la piel o chagoma, edema bipalpebral o signo de Romaña. La fase inicial aguda es seguida por una

fase indeterminada que puede ser mayor de quince años y progresar a fase crónica (11,12). La fase crónica es la etapa que produce mayor morbimortalidad. Esta, por no tener síntomas característicos, pasa inadvertida en muchos casos. En los pacientes se encuentran defectos en la conducción ventricular, arritmias e insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), además de una ligera hepatoesplenomegalía y linfadenopatía (13).

Todos los órganos pueden ser invadidos por el parásito. Las lesiones más peligrosas en el hombre afectan al corazón y cerebro, siendo común la presencia de megaesófago y megacolon (2,13).

Los niveles de parásito en sangre en esta fase son bajos, sin embargo son numerosos en las células de los tejidos, donde aparentemente se encuentran protegidos contra los anticuerpos. Los tripomastigotes salen de las células rotas, e invaden inmediatamente otras células antes de ser atacados por los anticuerpos. Por esta razón los tratamientos deben ser dados en la fase aguda, cuando los tripomastigotes están circulando (2).

5. Tratamiento

El tratamiento de elección para la enfermedad de Chagas es el Nifurtimox y el alternativo es Benzonidazol. Los mismos poseen efectos adversos frecuentes de consideración. Entre ellos podemos mencionar: anorexia, vómitos, pérdida de peso, amnesia, dismnesia, temblores, parestesias, debilidad y polineuritis (14). El Nifurtimox es un medicamento de alto costo y difícil acceso para la población.

B. **TRYPANOSOMA CRUZI**

1. Morfología y ciclo de vida

Este agente etiológico es un protozoo hemoflagelado que pertenece al Phylum sarcomastigophora, subphylum Mastigophora, orden Kinetoplastida (1).

El *Trypanosoma cruzi* se encuentra en tres formas morfológicamente relacionadas con tres medios distintos en que habita el parásito. Los estadios del parásito son amastigote, epimastigote y tripomastigote (1,15).

Los amastigotes son organismos de forma esférica u ovalada de unos 2 um de diámetro, sin flagelo y se multiplican intracelularmente en los mamíferos huéspedes. Los amastigotes pueden obtenerse de tejidos de animales infectados (15).

Luego de la multiplicación dentro de las células, los amastigotes se diferencian en tripomastigotes, justamente antes que la célula se rompa y el parásito escape (2).

Los epimastigotes están conformados del cinetoplasto, situado delante del núcleo, un flagelo y una membrana ondulante, siendo organismos fusiformes de unas 20 um de longitud. Esta forma de multiplicación se encuentra en el tubo digestivo del vector y en los cultivos *in vitro*. Los epimastigotes se encuentran en el lumen del insecto, en el intestino medio. Los epimastigotes de estos insectos se derivan de la diferenciación de tripomastigotes de sangre de mamíferos cuando son ingeridos por el insecto que ingiere la sangre. En el laboratorio el epimastigote es el estadio del parásito más fácil de manipular, ya que éste crece en grandes cantidades en los medios de cultivo, y puede diferenciarse en formas tripomastigotas bajo condiciones especiales (1,2).

Los tripomastigotes tienen cinetoplasto situado después del núcleo, un flagelo y una membrana ondulante a lo largo del organismo. Estos miden 20 um de largo y constituyen una forma infecciosa no multiplicativa. Este se encuentra en la luz del recto de los reducidos y son infecciosos para los mamíferos. Los tripomastigotes se encuentran en el mamífero huésped, transmitiendo la infección de una célula a otra o iniciándola en el reducido cuando se ingieren con la sangre. Los tripomastigotes aparecen en el lumen del recto del insecto y son depositadas con las heces u orina, cerca de la herida mientras el insecto está chupando la sangre, siendo ésta la forma infectiva del parásito (2).

C. HUIZ

Familia: Solanaceae.

Nombre científico: *Solanum hartwegii*.

Nombres comunes: huiz, friega plato, lava plato, berengena.

1. Descripción de la planta

Arbusto de 0.5 a 3.5 m de alto. El tallo está cubierto algunas veces por largos pelos de color café-rojizo. Las ramas son caídas, y poseen espinas cortas y hojas alternas, de tallo corto ovaloelípticas u ovalolanceoladas superficialmente. Las flores son de color morado pálido en forma de embudo de 2.5 a 3.5 cm de ancho, con el cáliz y corola de una sola pieza, dividida en 5 lóbulos, gajos o dientes y casi siempre también con 5 estambres de desigual longitud. Las flores se agrupan en ramilletes semejantes a umbelas o aisladas. El fruto es una cápsula o baya dividida en dos compartimientos y con frecuencia cada uno de ellos se subdivide en otros dos (16,17.18).

2. Origen y distribución

Crece en forma silvestre en lugares húmedos, matorrales y bosques de pino o encino, del norte de México a Costa Rica, entre los 1200 y 3200 m de elevación. En Guatemala se encuentra con frecuencia en los departamentos de Alta y Baja Verapaz, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, El Progreso, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Totonicapán y San Marcos (18).

3. Usos medicinales

Esta planta se aplica como cataplasma de ramas y hojas sobre las mordeduras de perros en Alta Verapaz, Guatemala. La planta disuelve la sangre coagulada. La decocción de las hojas se utiliza como remedio para infecciones de oídos y nariz (16).

4. Otros estudios sobre Solanaceae

Varias especies de Solanaceae han sido utilizadas durante siglos como plantas medicinales en el mundo. En el Medio Oriente ha sido bien documentado su uso. Se realizó un estudio sobre las Solanaceae como plantas medicinales en Israel, donde se presenta los usos medicinales que los grupos étnicos de la región le dan a estas especies. Dentro de las especies estudiadas se encuentran: *Datura innoxia*, *Datura stramonium*, *Hyoscyamus albus*, *Lycium europaeum*, etc. Los usos medicinales que se les da son muy diversos. Entre estos están: alivio de diarrea, dolor, congestión respiratoria, inflamaciones, para mordeduras de insectos, enfermedades de la piel, etc. Generalmente se aplican como cataplasma o inhalando los vapores. Por la toxicidad de las mismas su uso se ha disminuido (21).

Solanum nigrescens se usa en Guatemala como medicina popular para el tratamiento para infecciones fúngicas superficiales, particularmente en vaginitis. En 1992 se examinó el efecto de extractos hidroalcohólicos de *S. nigrescens* en *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*. La solución acuosa de etanol de las hojas de *S. nigrescens* presentó actividad antifúngica después de su exposición al extracto en un tiempo determinado (22).

En 1998, Poll, presentó un estudio sobre Plantas tóxicas de Guatemala en casa y en el campo. En el mismo se encuentran *Datura stramonium*, *Brugmansia arborea*, *Solanum nigrescens*, todas Solanaceae, además de *Ipomoea violacea* y *Argemone mexicana*. La intoxicación por las mismas provoca dificultad de hablar y tragar, inconciencia, convulsiones, parálisis respiratoria, problemas gastrointestinales, etc.

D. ESTUDIOS ANTERIORES

La acción tirpanostática de *Solanum hartwegii* sobre la cepa *T. cruzi* HD-GT/92/MAR-6 fue evaluada por Yapur (1994). Esta planta mostró cierto efecto sobre la cepa, pero el mismo no pudo comprobarse estadísticamente (2).

La cepa MHOM/GT/94 SMI-04 se utilizó en un estudio sobre la actividad *in vitro* de cinco plantas medicinales utilizadas comúnmente en Guatemala. La cepa fue aislada de una niña de 11 años del municipio de Santa María Ixhuata, Santa Rosa, Guatemala. De las plantas utilizadas en este estudio *N. lobata* resultó ser la más activa (19).

La cepa ITD-GT/97/DPM se extrajo de la ampolla rectal de *T. dimidiata*, colectada por Carlota Monroy y Antonieta Rodas en Agua Zarca, departamento de Santa Rosa y transferida a ratones suizos para su reproducción. Siendo estudiada por primera vez en este trabajo de investigación.

4. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala las plantas medicinales son ampliamente utilizadas, debido a su facilidad de obtención y bajo costo, comparado con la medicina química. El tratamiento de elección en Guatemala para la enfermedad de Chagas es el Benzonidazol y el alternativo, Nifurtimox. Estos medicamentos poseen efectos adversos frecuentes, de consideración, además de ser de costo muy elevado y de difícil obtención para la mayoría de la población, ya que en el mercado no existe disponibilidad para su adquisición.

La trypanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es un problema endémico de América Latina y de amplia distribución en Guatemala, que produce problemas graves en los tejidos de los humanos, especialmente el cardíaco.

Se debe tomar en cuenta la búsqueda de plantas medicinales como alternativa para el tratamiento, ya que la población rural afectada es de escasos recursos y la adquisición de los medicamentos químicos se dificulta debido a su alto precio.

Solanum hartwegii mostró cierta efectividad tripanostática en estudios anteriores, por lo que se considera necesario evaluar esta planta en mayor detalle para establecer si puede representar una opción importante en la cura de la enfermedad para la población de escasos recursos económicos.

5. OBJETIVOS

A. General

Determinar la acción tripanostática *in vivo*, de la infusión de las flores del huiz (*Solanum hartwegii*, Solanaceae) sobre dos cepas de *Trypanosoma cruzi*.

B. Específicos

Demostrar la actividad tripanostática de la infusión de flores de *Solanum hartwegii* sobre la cepa MHOM/GT/94 SMI-04 de alta parasitemia y la cepa ITD-GT/97/DPM de baja parasitemia.

6. HIPÓTESIS

La infusión de las flores de *Solanum hartwegii*, tiene acción tripanostática sobre por lo menos una, de las cepas MHOM/GT/94 SMI-04 y ITD-GT/97/DPM de *Trypanosoma cruzi*, utilizadas.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Planta medicinal a utilizar para el tratamiento de infección por *Trypanosoma cruzi*, *Solanum hartwegii*.

B. Muestra

Infusión de flores de huiz (Solanaceae: *Solanum hartwegii*). La acción tripanostática se evaluará sobre cepas de *T. cruzi*, MHOM/GT/94 SMI-04 y ITD-GT/97/DPM, clasificada según criterios de UNDP/World Bank/WHO, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases on Standardization or Methods for *T. cruzi* Classification. La cepa ITD-GT/97/DPM fue extraída de la ampolla rectal de *Triatoma dimidiata*, colectada por Carlota Monroy y Antonieta Rodas en Agua Zarca, Santa Rosa y transferida a ratones suizos. La cepa MHOM/GT/94 SMI-04 de origen humano fue obtenida del laboratorio de Citohistología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

C. Recursos

1. Recursos humanos

Investigadora: Delmy Verónica Pajares Mena
Asesora: MSc. María Carlota Monroy
Colaboradores: Licda. Antonieta Rodas

2. Recursos institucionales

Departamento de Zoología, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

3. Recursos materiales

- Cristalería:
 - Beakers de 250mL
 - Cubreobjetos 22x22mm

Embudos
Pachas de 500mL
Portaobjetos 76x26mm

- Equipo:

Balanza semi-analítica
Balanza para pesar ratones
Estufa
Guantes
Jaulas para ratones
Jeringas de 5cc
Jeringas de 10cc
Fuente de luz
Microscopio
Micropipeta calibrada
Tijeras de disección
Tips de 10 μ L
Sonda orogástrica

- Reactivos:

Cloro
Cloroformo GR
Etanol al 95%
Flores secas de huiz
Heparina
Solución salina

D. Procedimiento

1. Reproducción del parásito

Se inculó intraperitonealmente muestra de heces de chinche que se encontró positiva a ratones suizos machos de 20 a 30 g de laboratorio. A partir del quinto día, se sangró al ratón de la cola para contar la cantidad de parásitos circulantes en la sangre. Al ser observados un número aproximado de 100

parásitos/5 μ L, se sacrificaron los ratones para inocular, a los utilizados, en la parte experimental.

2. Recolección de la planta

La mayoría de la planta utilizada se colectó en el municipio de Nahualá, departamento de Sololá, en terrenos ubicados a 2,000 metros sobre el nivel del mar. También se colectó en terrenos valdíos de la Ciudad de Guatemala, especialmente en la zona 12 y zona 8 de Mixco, al inicio de la época seca (segunda semana de Octubre). Las flores de la misma se secaron a temperatura ambiente, a la sombra. Luego se pulverizaron y guardaron.

3. Extracción

Se añadió 100 mL de agua hirviendo a 10 g de planta seca y molida, dejándola reposar por media hora. Luego se filtró y administró a los ratones inmediatamente.

4. Administración

Se administró a los ratones por vía oral por medio de sonda orogástrica a una dosis de 1000 mg/kg de peso.

5. Determinación de la acción tripanostática

Se utilizaron 10 ratones albinos machos por cepa de experimentación, de 25 a 35 g de peso, los cuales se inocularon con 1×10^4 tripomastigotes de cepa de alta parasitemia y 630 parásitos de la cepa de baja parasitemia. Se administró la infusión de la planta por vía oral durante 35 días iniciando 24 horas después de la inoculación. Se incluyeron además, dos grupos de ratones control, los cuales también fueron inoculados con las dos cepas de *T. cruzi*. Cada grupo constó de 10 animales.

La evaluación de la parasitemia se llevó a cabo cada 2 días, tomando 5 μ L de sangre a través de un corte transversal en la cola del animal y observando las muestras al microscopio, contando el número de parásitos en sangre encontrados. El nivel de parasitemia se calculó por medio de curvas, comparando

el número de tripomastigotes obtenidos de los ratones bajo administración de la planta y los controles.

6. Análisis Estadístico

Para determinar la disminución de parasitemia por *Solanum hartwegii* el número de repeticiones para cada grupo se hizo según los siguientes cálculos:

$$n_j = \frac{2NC^2\sigma^2}{\Delta^2}$$

Donde: NC = 1.96

$$\Delta = \sigma$$

Por tanto: $n_j = 2NC^2$

$$n_j = 2(1.96)^2 = 7.68 \text{ (aproximadamente, 8).}$$

La investigación se llevó a cabo con un número de 10 ratones por grupo, tanto para control como para tratamiento.

Se utilizó un prueba estadística de hipótesis para determinar actividad tripanostática por parte de *Solanum hartwegii*. La hipótesis estadística es la siguiente:

$$H_0: \mu_1 \leq \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 > \mu_2$$

Donde: μ_1 = Grupo con planta

μ_2 = Grupo control

Si H_0 se rechaza indica que la planta disminuye la parasitemia.

El estadístico de prueba que se calcularía a partir de los resultados obtenidos sería "t de Pendientes". Pero no fue posible aplicar este análisis debido a la variabilidad de los resultados obtenidos, lo que se explica en forma más amplia en la discusión de resultados.

8. RESULTADOS

El coeficiente de correlación (r^2), es un parámetro que permite establecer la relación estadísticamente significativa entre variables. Durante el presente estudio se trabajó con las variables, nivel de parasitemia y tiempo. Para determinar si existía una relación entre las variables, se aplicó a los datos un análisis de regresión lineal y en todos los casos se obtuvieron los datos de r^2 menores de 0.14. El valor de este coeficiente debe de ser mayor de 0.7 para demostrar que sí existe relación estadísticamente significativa entre las variables.

De esta forma se estableció que no existe relación estadísticamente significativa entre las variables tiempo y nivel de parasitemia, en ninguno de los cuatro grupos de ratones estudiados (grupos infusión y control). Por lo tanto, no fue posible aplicar el análisis de "t de pendientes", por medio del cual se podría demostrar el efecto tripanostático del *Solanum hartwegii*.

Debido a lo expuesto con anterioridad, se realizaron gráficas descriptivas de "caja de Tukey". Estas gráficas describen el comportamiento de las cepas de *Trypanosoma cruzi* en la sangre del grupo de ratones infectadas con las cepas MHOM/GT/94 SMI-04 y ITD-GT/97/DPM, tratadas con la infusión de *Solanum hartwegii* y control, durante 42 días y 35 respectivamente. El conteo se inició a partir del día 7 después de la infección.

Para los ratones infectados con la cepa MHOM/GT/94 SMI-04, tratados con infusión de *Solanum hartwegii*, el valor máximo promedio de parasitemia ocurrió en el día 12 de conteo, siendo de 454,500 parásitos/mL. El último día de conteo, el nivel promedio de parásitos en sangre, fue de 134,580. El 50% de los individuos de este grupo presentó valores de cero parásitos/mL al finalizar el estudio.

En el grupo control de la cepa MHOM/GT/94 SMI-04, el valor máximo promedio de parasitemia fue el día 13 de conteo, teniendo un valor de 291,410 parásitos/mL. El valor promedio del último día de conteo fue de 112,210 parásitos/mL, y ningún ratón presentaba cero parásitos. En los anexos 1 y 2 se

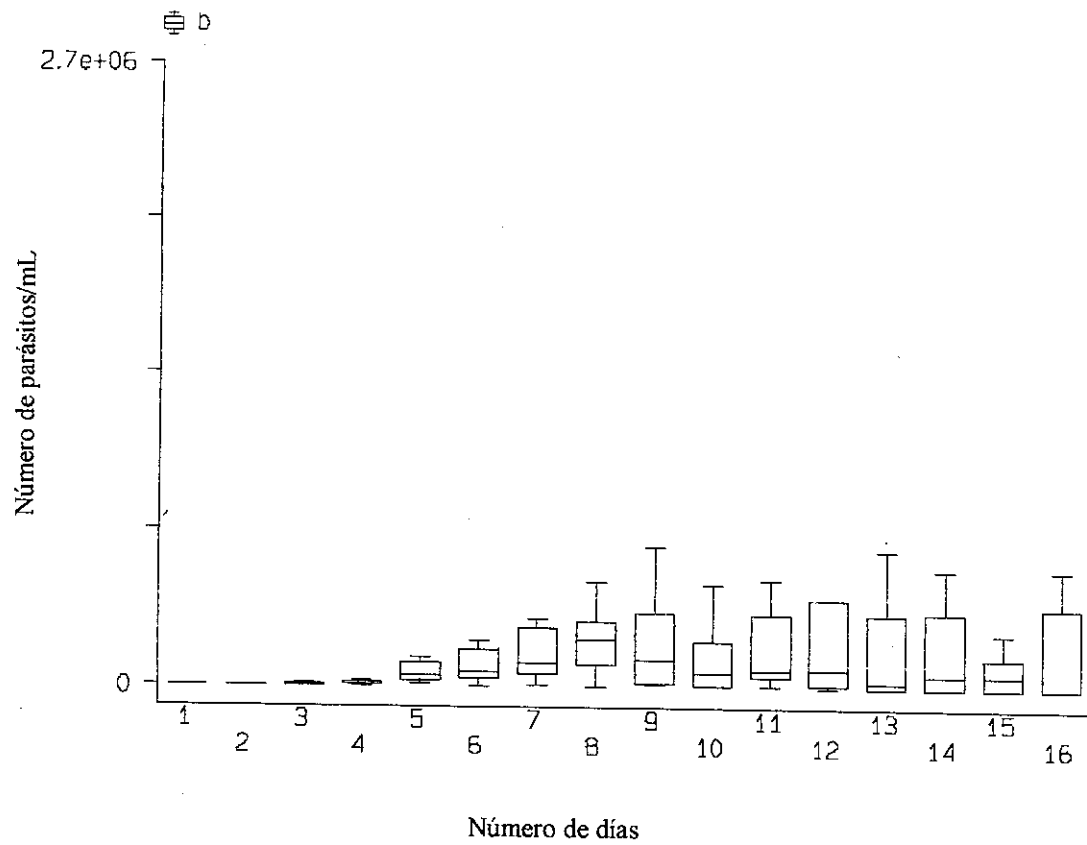
presentan los datos de los conteos de parásitos en sangre, de cada grupo de ratones, a lo largo del estudio, y las medias respectivas.

La cepa ITD-GT/97/DPM en el grupo infusión presentó su máximo valor el día 7 de conteo, siendo de 1,260 parásitos/mL. El último día de conteo para este grupo el nivel de parasitemia fue de 260 parásitos/mL. El 50% de los individuos presentaron niveles de parasitemia iguales a cero. En el grupo control el valor máximo se observó el día 7 también, siendo de 1,200. El último día, el número de parásitos fue de 340 parásitos/mL, y el 40% de los ratones presentaron cero parásitos. Lo mencionado con anterioridad se muestra en los anexos 3 y 4.

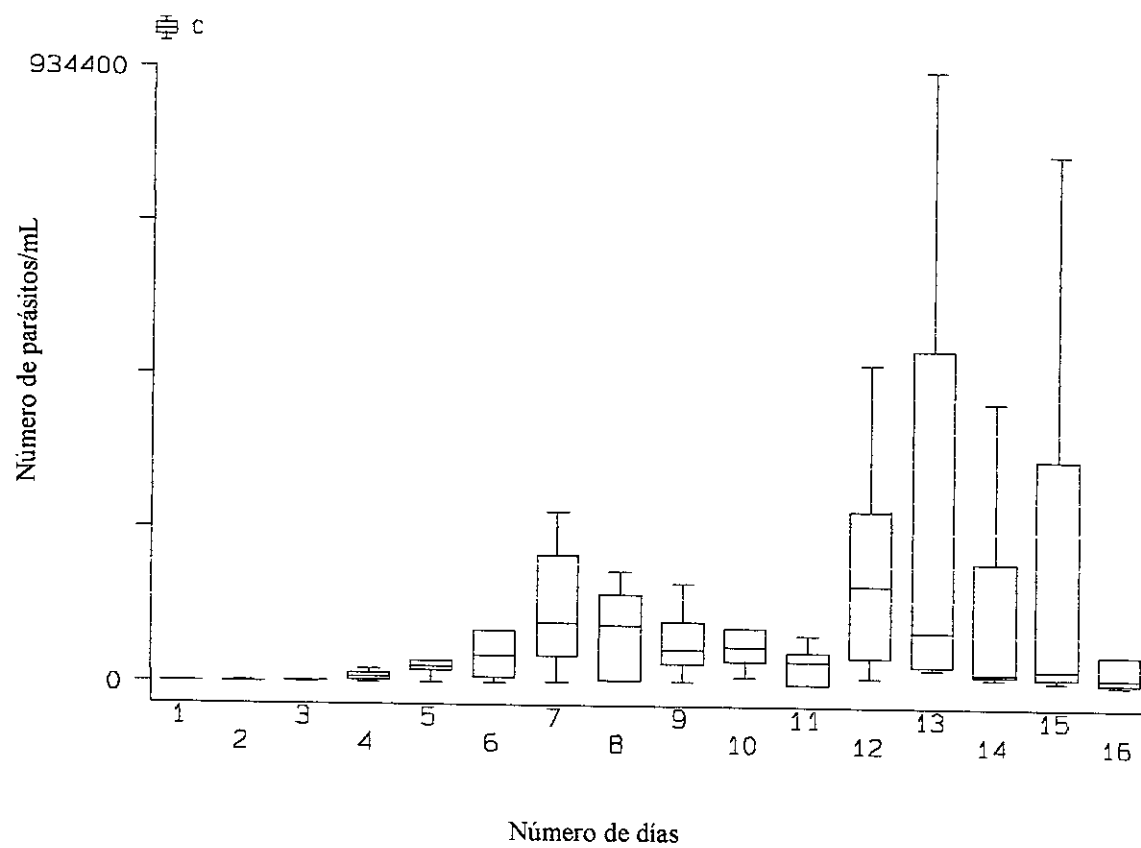
Cabe mencionar, que en ambas cepas trabajadas, la mortalidad fue del cero porciento. Además, en ambas cepas, el número de ratones que presentó un nivel de parasitemia de 0 parásitos/mL al final del estudio, en los grupos infusión, fue mayor que en los grupos control. Los ratones fueron sacrificados al final del estudio.

A continuación se presentan las gráficas de "caja de Tukey", realizadas para ambas cepas. En las mismas se puede apreciar que los valores obtenidos en los grupos tratados control para la cepa de alta y baja parasitemia, presentaron mayor variabilidad y presentaron datos alejados de la media, mientras que en los grupos tratados con infusión los valores fueron más homogéneos.

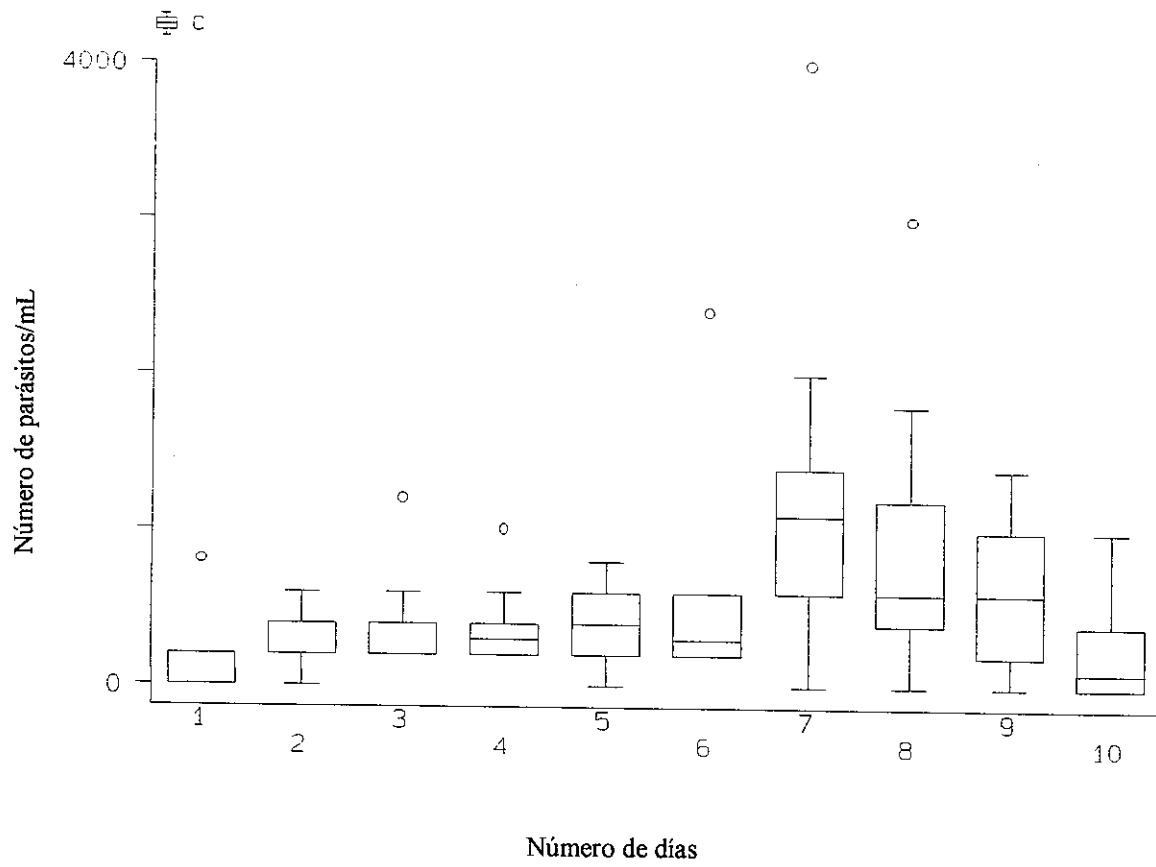
Gráfica 1. Distribución de los datos de los ratones infectados con la cepa MHOM/GT/94 SMI-04 tratadas con infusión.



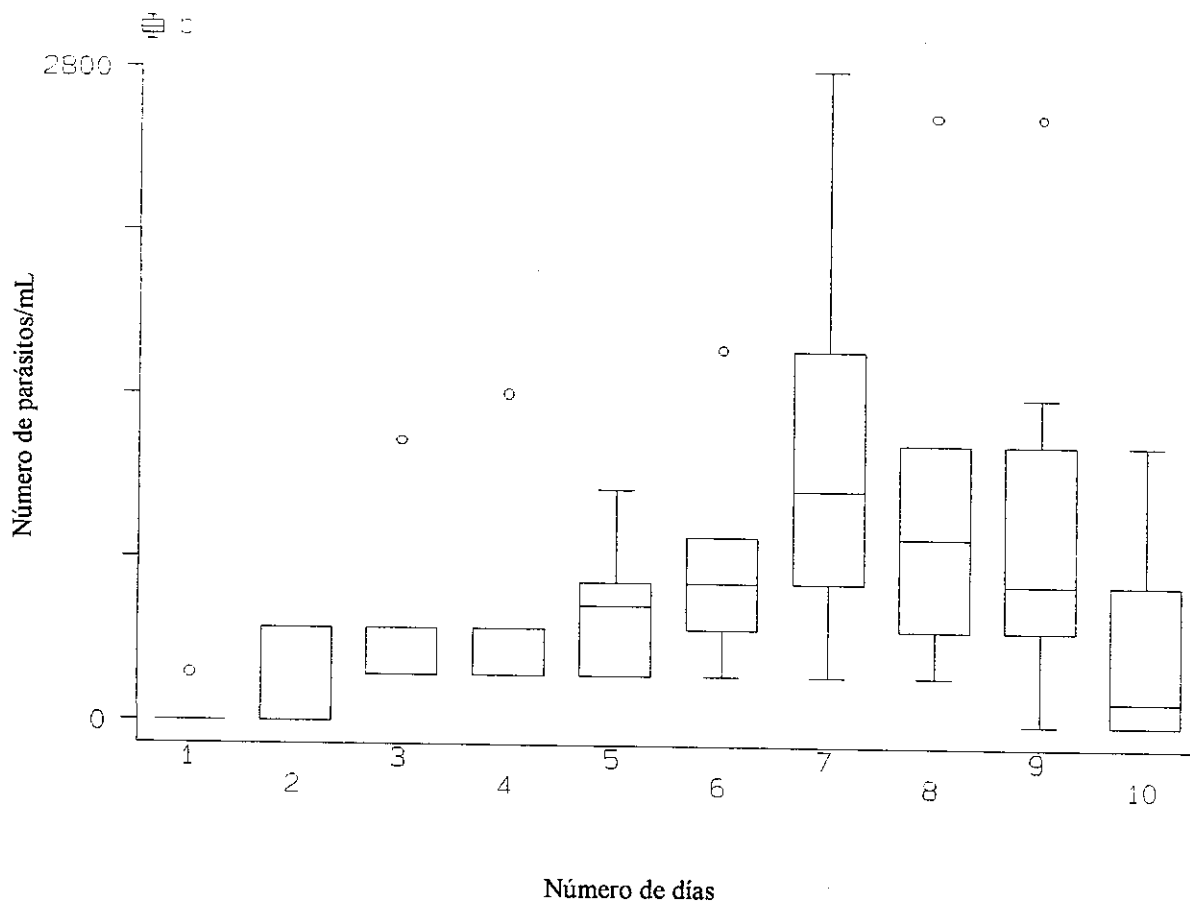
Gráfica 2. Distribución de los datos de los ratones controles infectados con la cepa MHOM/GT/94 SMI-04



Gráfica 3. Distribución de los datos de los ratones infectados con la cepa ITD-GT/97/DPM tratados con infusión.



Gráfica 4. Distribución de los datos de los ratones control infectados con la cepa ITD-GT/97/DPM



9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos no permitieron el análisis estadístico planteado en el protocolo de investigación, debido a que los mismos fueron variables, presentándose valores muy por encima de la media, además de presentarse varios picos de parasitemia, tanto en los grupos control e infusión para ambas cepas.

Se intentaron varios tipos de regresión lineal, para encontrar una recta que permitiera comparar las pendientes de la misma, como requiere el análisis de "t de pendientes", para demostrar el efecto de planta. Sin embargo esto no fue posible, ya que en todos los casos el coeficiente de determinación (r^2) fue como máximo de 0.1, debiendo ser mayor de 0.7. De esta manera se demostró que las variables de tiempo y nivel de parasitemia, no presentaron relación exponencial como es lo esperado en el comportamiento del desarrollo de una cepa.

Los parásitos crecieron indistintamente, no importando el número de días transcurridos, tal como se muestra en los anexos 5 y 6, donde se presentan gráficas del número de parásitos/mL por día de conteo en sangre.

Las gráficas presentadas en los resultados muestran que no existió diferencia significativa de las medias del parásito en sangre y del comportamiento en general, de las cepas control e infusión. En los anexos 5 y 6, podemos observar claramente esto.

En el caso de la cepa MHOM/GT/94 SMI-04, se planteó inicialmente de 35 días, pero tuvo que prolongarse a 42 días, debido que a los 35 días (día 12 de conteo) el nivel de parásitos en sangre no había disminuído en ninguno de los grupos de estudio (control e infusión). En el día No. 42, 5 ratones tratados con infusión, presentaron 0 parásitos/5 μ L de sangre y mientras que en los ratones control no existía ninguno con 0 parásitos/5 μ L. Por tal motivo se decidió suspender la parte experimental. Los ratones ya se encontraban físicamente desgastados y regurgitaban la infusión, por lo que en algunas ocasiones se debia de insertar la sonda orogástrica varias veces, para asegurarse que se

administrara la cantidad de infusión determinada. Además, el corte transversal de la cola por el cual se sangraba al ratón, formó una costra difícil de remover, dificultando todo esto el seguimiento de la investigación.

En cuanto a la cepa ITD-GT/97/DPM, se realizó la parte experimental durante el tiempo establecido por la metodología. A los 35 días cinco sujetos de estudio tratados con infusión presentaban cero parásitos en sangre. Esta cepa fue estudiada por primera vez en este trabajo de investigación, extraída de la ampolla rectal de *Triatoma dimidiata*, colectada en Agua Zarca, Santa Rosa.

Dentro de las posibles causas de la variabilidad de los datos obtenidos, debemos tomar en cuenta la edad de los ratones utilizados. Los animales fueron ratones albinos, machos, de aproximadamente 7 semanas, siendo en esta etapa jóvenes adultos. Es posible que la edad, sexo o condición de vida sean factores determinantes para el desarrollo de las cepas. Ya que se observó que en ambas cepas, siendo totalmente diferentes y siendo de distinto origen, presentaron resultados similares.

En ambas cepas se observaron picos de crecimiento similares, y los niveles de parasitemia al inicio y al fin del estudio fueron semejantes. Además ninguna de las dos cepas de *Trypanosoma cruzi* presentó crecimiento exponencial y existieron datos muy alejados de la media, tanto en grupos control como infusión.

El modelo experimental utilizado no fue adecuado para demostrar el efecto tripanostático de la planta para las cepas utilizadas, debido a que no se observó el desarrollo total de las cepas en todos los sujetos de experimentación. Este modelo se empleó debido a que ya se había sido utilizado anteriormente en otros trabajos de experimentales con cepas de *Trypanosoma cruzi*. Sin embargo nunca antes se habían realizado curvas de parasitemia para estas cepas, ya que de la cepa MHOM/GT/94 SMI-04 solamente había sido estudiada su actividad *in vitro* y no *in vivo* (19). Mientras que la cepa ITD-GT/97/DPM nunca había sido estudiada anteriormente. Por tanto no podemos asegurar que ese modelo experimental sea útil en el caso específico de estas cepas.

En 1996 Mata, *et al*, realizaron un estudio sobre siete cepas de *T. cruzi* que fueron aisladas en nuestro país. En el mismo se inocularon ratones con 1×10^4 parásitos, la misma cantidad que se inoculó en el presente estudio, para la cepa MHOM/GT/94 SMI-04. La parte experimental tuvo una duración de 90 días. Los picos máximos de parasitemia se presentaron entre los días 24 y 85 del experimento. Los picos máximos de parasitemia de la cepas fueron desde 1.4×10^7 hasta 2.5×10^8 (20). Los picos máximos de parásito en sangre para la cepa de alta parasitemia utilizada en este trabajo (MHOM/GT/94 SMI-04), se presentaron al rededor del día 32 y 35. Con base en los resultados obtenidos durante el mencionado estudio, se puede deducir que la fase experimental de la presente investigación, tuvo que haber tenido una duración mayor.

La dosis utilizada fue de 1000 mg/kg de peso, ya que ésta es la máxima dosis recomendada a nivel farmacológico en general, pero no existe ningún estudio previo que respalde la dosis para el huiz, al igual que no existe ningún estudio de DL_{50} que nos indique toxicidad, ni efectos adversos. Por tanto se desconocen los efectos adversos o tóxicos de la planta, y no fue posible determinar si estos tuvieron influencia sobre los resultados obtenidos.

De igual manera no existe ningún estudio fitoquímico que nos indique, el principio activo, características del mismo, tales como solubilidad y degradación, o la época de recolección adecuada o parte de la planta efectiva. Siendo estos factores influyentes en la investigación.

Para finalizar se debe de mencionar que ni los resultados de la presente investigación, ni los del estudio efectuado por Yapur en 1994 (2), son concluyentes. Debido a que en ambos estudios no se realizó en análisis estadístico planteado por la variabilidad de resultados obtenidos.

10. CONCLUSIONES

1. Debido a la variabilidad de los resultados obtenidos, no fue posible realizar el análisis estadístico propuesto inicialmente, por lo que no se pudo demostrar si *Solanum hartwegii* posee actividad tripanostática.
2. Los valores promedio de parásitos/mL de sangre, tanto para la cepa MHOM/GT/94 SMI-04 y ITD-GT/97/DPM, grupos control e infusión no presentaron diferencias significativas que demostraran que *Solanum hartwegii* posee acción tripanostática.
3. La edad o sexo del ratón puede ser un factor determinante del comportamiento de las cepas, ya que siendo cepas totalmente diferentes se comportaron de manera similar en ambos casos.
4. La duración de la fase experimental del modelo empleado no permitió observar el comportamiento de las cepas a lo largo de sus ciclos vitales completos.
5. No existe ningún estudio fitoquímico previo sobre *Solanum hartwegii*, que indique época de colecta adecuada o parte de la planta que posea mayor cantidad de principio activo, por ello la colecta se realizó solamente con base en la época de floración de la misma en nuestro país.
6. No existe ningún estudio de DL₅₀ para *Solanum hartwegii* que apoye la dosis utilizada en esta investigación.

11. RECOMENDACIONES

Se recomienda la realización de un estudio de DL₅₀ para *Solanum hartwegii*, para determinar su toxicidad y las dosis adecuadas del mismo.

Se recomienda realizar un estudio similar al presente, prologando la fase experimental, de tal forma que el 100% de los sujetos de experimentación presenten cero parásitos en sangre al finalizar el mismo. De esta forma se podría observar el ciclo de vida completo de las cepas.

Se recomienda realizar un estudio con cepas de distinto origen y diferentes niveles de parasitemia, sobre grupos diferenciados de ratones, tanto por sexo como por grupo de edad, para determinar la influencia de estos factores sobre el comportamiento de las cepas de *Trypanosoma cruzi*.

Se recomienda realizar distintos modelos experimentales con las cepas utilizadas en este trabajo de tesis, con base en estudios de toxicidad y fitoquímicos previos para determinar las posibles acciones farmacológicas de *Solanum hartwegii*.

12. REFERENCIAS

1. Rodas, AG. *Caracterización Biológica de 5 cepas guatemaltecas de Trypanosoma cruzi aisladas de T. dimidiata y T. nítida*. USAC. Escuela de Química Biológica. Guatemala, 1994.
2. Yapur, AL. *Efecto de infusiones de Jacaranda mimosifolia, Neurolaena lobata y Solanum hartwegii sobre curvas de parasitemia de Trypanosoma cruzi en ratones*. USAC. Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. Escuela de Química Biológica. Guatemala. 1994
3. Castillo Al. *Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en el sur-oriente de Guatemala*. USAC. Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. Escuela de Química Biológica. Guatemala. 1987
4. Mazariegos, R. *Prevalencia de la enfermedad de Chagas en donadores de banco de sangre*. USAC. Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. Escuela de Química Biológica. Guatemala, 1986.
5. Ramírez, J. *Efectos del terremoto de 1976 sobre la incidencia de la enfermedad de Chagas en varios municipios de Guatemala*. USAC. Facultad de C.C. Q.Q. y Farmacia. 1988
6. González, S. *Prevalencia de la enfermedad de Chagas en Puerto Barrios, Izabal*. USAC. Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. 1989.
7. Pérez, A. *Estudio sobre la inmunidad al agente de la enfermedad de Chagas en regiones escogidas de Guatemala*. USAC. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1980. 36p.
8. Monroy, C. *Vectores de la Enfermedad de Chagas en Guatemala*. Memoria del I Seminario Internacional de Enfermedades Tropicales. JICA. Guatemala, 1992. 128p.
9. World Health Organization. *Inmunology of Chaga's disease*. Memoranda, 1974; 50:459.
10. American Hearth Journal. *Cardiomiopatía crónica de Chagas*. ILADIBA, 1991. 8:36-37.
11. UDNP/WORD BANK/WHO. *Tropical Disease Progrese in International Research 1987-1988*. Ninth Programe Report. Special Program for research and Traning in Tropical Diseases TDR. Geneva 1989. 92p
12. Aguilar, F. *Parasitología médica*. Guatemala: Litografía Delgado. 1987. 363p

13. Pinto JC. *Cardiopatía Chagásica: Mito y desafío*. Arch Inst. Cardiología, México 1990; 60:119-120
14. *The Medical Letter. Compendio de Terapéutica antimicrobiana*. Editores internacionales: España. 1995
15. Rowen, A. et al. *Inmunología de la Enfermedad de Chagas*. OMS. 1974; 4: 459-492.
16. Morton, J. *Atlas of Medicinal Plants of Middle America*. USA: Illinois. 1981. 1429p
17. Gentry J, Stanley P. *Flora de Guatemala*. Fieldiana: Botany. Vol 24, Vol 11. 1974. 466p.
18. Ocampo, R. Moffioli, A. *El uso de las plantas medicinales en Costa Rica*. Costa Rica: Dioscorides Renovado. 1985. 96 p.
19. Ingeborg B, Wolfgang K, 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. Guatemala, 1996. 118p
20. Matta, V. et al. *Caracterización de las cepas de T. cruzi aisladas en Guatemala*. JICA. Guatemal, 1996. 42-51p
21. Dafni, A.; Yaniv, Z. *Solanaceae as medicinal plants in Israel*. Journal of Ethnopharmacology 44, 1994. 11-18 p.
22. He, Xian-guo, et al. *An antifungal compound from Solanum nigrescens*. Journal of Ethnopharmacology 43, 1994. 173-177 p.
23. Pöll, E. *Plantas tóxicas de Guatemala en casa y en el campo*. Ciencia en Acción 5. Universidad del Valle de Guatemala, 1998. 4pp.

13. ANEXOS

Listado de anexos:

- Anexo 1. Cuadro de valores cepa MHOM/GT/94 SMI-04
Grupo infusión.
- Anexo 2. Cuadro de valores cepa MHOM/GT/94 SMI-04
Grupo control.
- Anexo 3. Cuadro de valores cepa ITD-GT/97/DPM
Grupo infusión.
- Anexo 4. Cuadro de valores cepa ITD-GT/97/DPM
Grupo control.
- Anexo 5. Gráfica de valores cepa MHOM/GT/94 SMI-04
- Anexo 6. Gráfica de valores cepa ITD-GT/97/DPM

ANEXO 1

CUADRO DE VALORES CEPA MHOM/GT/94 SMI-04
RATONES CON INFUSIÓN

Día	No. de ratón										PROMEDIO	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	400	0	0	0	0	400	0	0	0	0	0	80
2	800	400	0	0	600	600	0	600	400	400	400	380
3	1200	9400	1800	3800	100	8200	0	200	4200	1200	1200	3010
4	3600	12000	1800	19000	5000	15800	0	7400	20600	2800	2800	8800
5	42600	51800	16800	105000	123200	44600	98600	13400	21800	24200	24200	54200
6	30200	174200	53400	157000	195600	61800	800	52000	53800	120000	120000	89880
7	117600	855400	35400	136600	247600	291000	2600	53700	73800	80000	80000	189370
8	179200	223200	27900	219600	744000	452400	2000	55200	91600	97700	97700	234390
9	28400	288800	109600	937200	318400	604800	13600	11600	124000	14,600	14,600	245100
10	142400	195000	14000	35600	261200	440400	3600	6000	87200	4400	4400	118980
11	301600	44800	74400	364000	465600	315200	3200	63800	42800	2600	2600	167800
12	18400	122000	82000	380400	1209200	2686800	2800	12000	69600	1800	1800	458500
13	52000	5200	1600	311200	592400	419200	2000	26000	19200	1200	1200	143000
14	151800	109400	600	32200	237600	502000	1600	400	400	800	800	132660
15	234200	112000	0	832800	125200	120800	800	0	0	400	400	142620
16	346400	28600	0	508400	46800	1600	0	0	0	0	0	134580

ANEXO 2

CUADROS DE VALORES CEPA MHOM/GT/94 SMI-04
RATONES CONTROL

Día	No. de ratón										PROMEDIO
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	0	400	800	200	0	0	400	400	0	600	280
2	1000	400	600	400	200	0	600	600	0	800	460
3	2600	2,200	1,000	1,200	200	600	1,400	1,200	1600	1400	1340
4	12800	3,200	3,000	10,000	200	9,000	3,800	21,000	18000	14600	9560
5	29200	265,800	71,400	33,800	200	23,600	20,000	26,000	21000	18400	50940
6	13800	4,200	9,000	248,800	400	18,000	268,000	70,400	80000	66200	77880
7	41600	44,400	54,000	195,600	1,200	22,200	200,000	260,400	132200	142800	109440
8	133600	8,400	131,500	48,000	3,200	5,600	169,600	165,600	4800	136200	80650
9	253600	32400	52000	154000	3800	17600	52800	80300	33100	94,000	77360
10	86000	176800	48000	79300	30600	9600	177600	50300	35400	63400	75700
11	198400	36000	74800	800	21600	400	33200	1600	40000	48800	45560
12	248400	102300	200200	387700	23600	10800	265800	99300	488000	42400	186850
13	128000	32700	432800	759700	25600	24800	509400	29700	934400	37000	291410
14	188800	18300	331900	189500	16600	19900	429800	15800	12000	21600	124420
15	513600	13100	345400	14900	11200	34000	808600	7500	104000	17200	186950
16	33400	10700	289000	6100	2200	14400	707200	2600	47100	9400	112210

ANEXO 3

CUADRO DE VALORES CEPA ITD-GT/97/DPM
RATONES CON INFUSIÓN

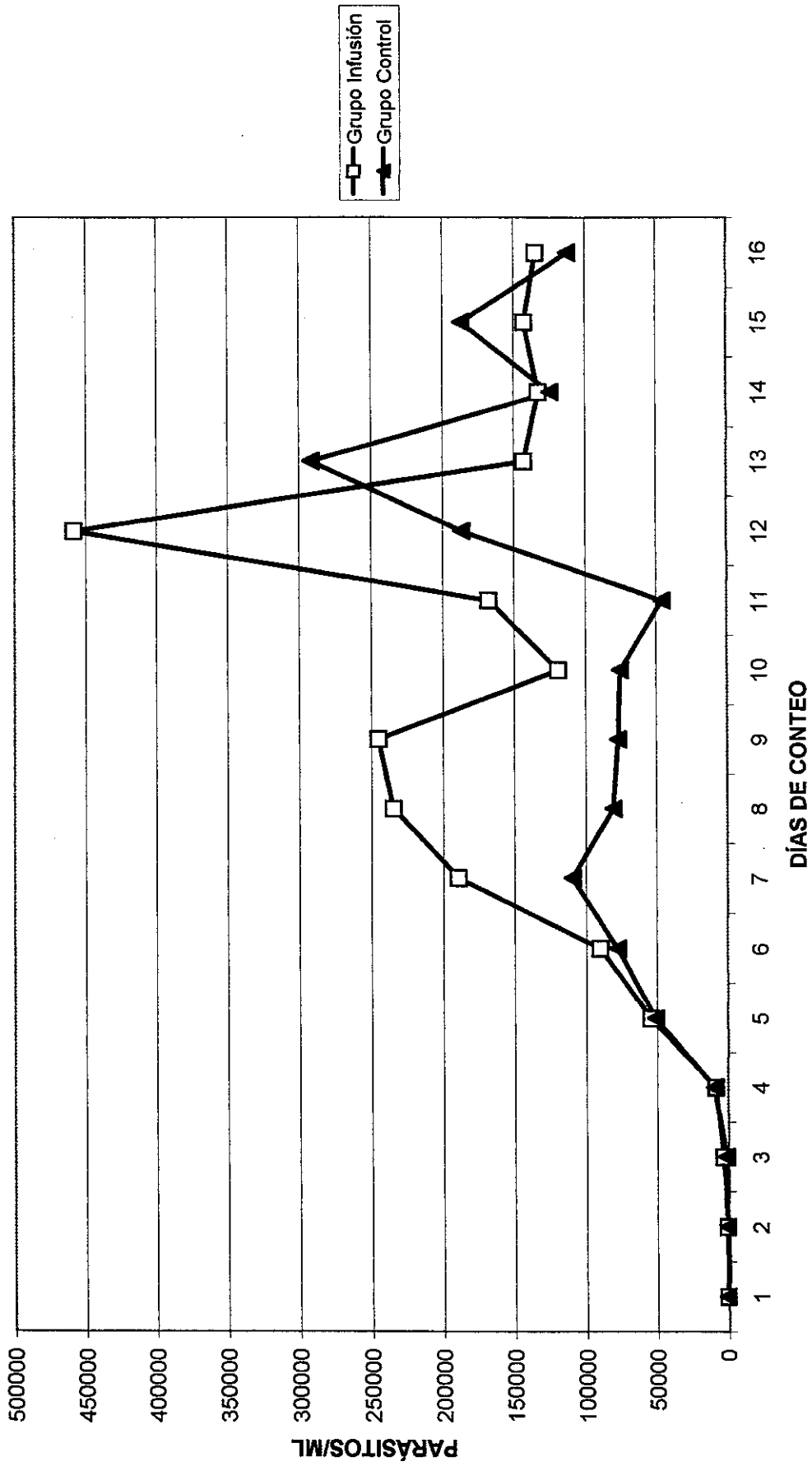
Día	No. de ratón										PROMEDIO
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	0	0	0	0	800	200	200	0	0	200	140
2	0	400	200	200	200	600	200	200	200	600	280
3	600	400	400	200	400	200	400	200	400	1200	440
4	400	200	200	200	1,000	200	400	200	400	600	380
5	200	400	400	200	0	600	400	800	600	400	400
6	600	600	400	200	200	200	200	200	2400	600	5600
7	400	1,000	1,200	0	600	1,400	800	1,200	4000	2000	1260
8	400	200	800	0	400	1,800	3,000	400	1200	1200	940
9	600	200	0	0	400	600	1400	1000	600	1,400	620
10	200	0	0	0	0	200	800	400	0	1000	260

ANEXO 4

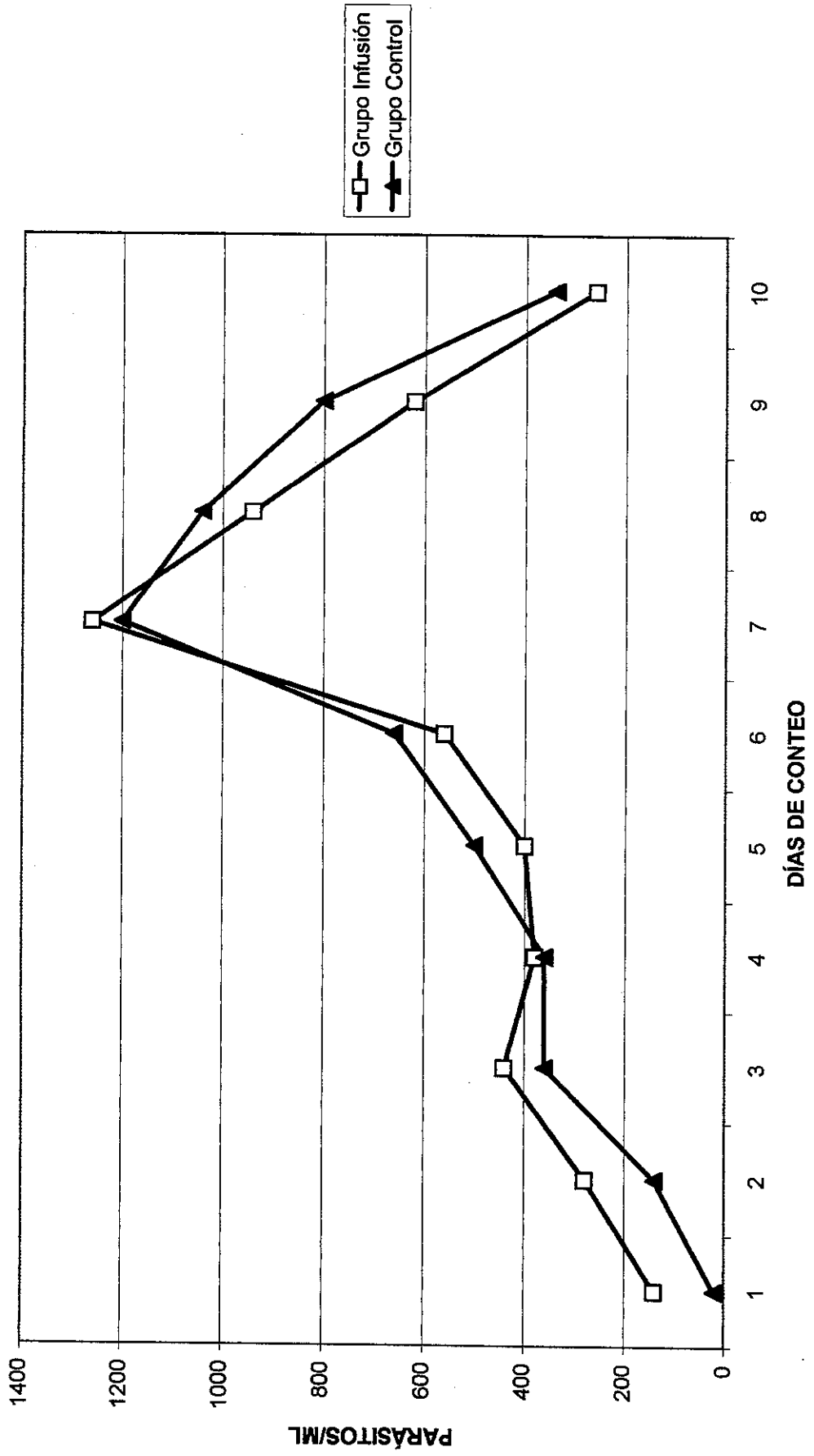
CUADRO DE VALORES CEPA ITD-GT/97/DPM
RATONES CONTROL

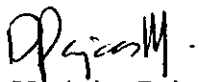
	No. de ratón										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	PROMEDIO
1	0	0	0	200	0	0	0	0	0	0	20
2	0	0	0	400	200	400	400	0	0	0	140
3	200	200	200	1,200	400	200	200	400	200	400	360
4	200	200	200	1,400	200	200	400	400	200	200	360
5	400	200	400	800	1,000	600	200	200	600	600	500
6	800	400	800	800	400	400	200	600	600	1600	660
7	600	1,600	800	2,800	600	1,200	1,200	200	600	2400	1200
8	1200	800	1,200	2,600	200	400	800	200	400	2600	1040
9	400	0	800	2600	0	600	600	400	1400	1,200	800
10	0	0	200	200	0	800	400	0	1200	600	340

ANEXO 5
VALORES OBTENIDOS CEPA MHOM/GT/94 SMI-04
GRUPOS CONTROL E INFUSIÓN

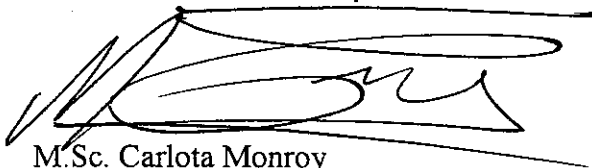


ANEXO 6
VALORES OBTENIDOS CEPA ITD-GT/97/DPM
GRUPOS CONTROL E INFUSIÓN





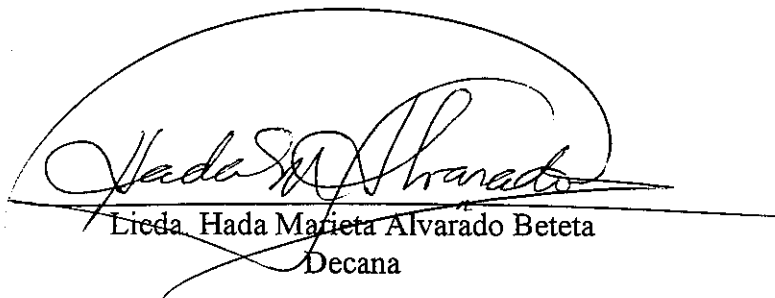
Delmy Verónica Pajares Mena
Autora



M.Sc. Carlota Monroy
Asesora



Licda. Lucrecia Peralta de Madriz
Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana