

477
2-9



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**Facultad de Estudios Superiores
Cuautitlán**

**ESTUDIO TERATOGENICO DE
ALFA - ASARONA EN RATON**

T E S I S

**Que para obtener el título de
Químico Farmacéutico Biólogo**

p r e s e n t a

ELSA RAMIREZ SUAREZ

Director de tesis: Dr. Germán Chamorro Cevallos

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1986



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
GENERALIDADES	5
OBJETIVO	8
MATERIAL Y METODOS	9
RESULTADOS Y DISCUSION	24
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFIA	35

R E S U M E N

Se trabajó con ratones hembra y macho de la raza-Webster-takoni. Después de comprobado el acoplamiento, se administró a las hembras gestantes α -asarona, vía oral, del 6^o al 15^o día. Las dosis empleadas fueron 5, 15 y 30 mg/Kg - de peso.

Dos días antes del término, se sacrificaron y se extrajo del cuerpo de la madre el útero y los fetos con sus respectivas placentas.

El útero se introdujo en una sol. de Sulfuro de Amonio al 20% para el recuento de implantaciones, mientras -- que a los fetos se les realizó un minucioso análisis exter-- no, registrándose tanto el peso fetal como el placentar.

Una tercera parte de los fetos se destinó para el examen de esqueleto y las 2/3 partes restantes para la reali-- zación de cortes, según la Técnica de Wilson.

Los resultados obtenidos en esta especie, señalaron que el aumento de peso ponderal de las madres no se vió-- afectado por la administración del fármaco. La α -asarona -- provoca reabsorciones embrionarias que guardan relación con-- la dosis, sin embargo no se encontraron malformaciones congé-- nitas.

I N T R O D U C C I O N

Desde hace muchos años, las autoridades gubernamentales de algunas naciones han exigido una serie de ensayos para el registro de nuevos fármacos de uso terapéutico¹.

El estudio de toxicidad involucra 4 tipos de pruebas²:

- 1) Toxicidad aguda
- 2) Toxicidad sub-aguda
- 3) Toxicidad crónica
- 4) Pruebas especiales :

- i) Fertilidad y viabilidad de descendencia
- ii) Mutagénesis
- iii) Carcinogénesis
- iv) Teratogénesis

Si bien es cierto que la infertilidad, los abortos espontáneos y las muertes neonatales, son tragedias importantes de la vida humana, aún es más trágico el nacimiento de infantes seriamente malformes. Las malformaciones congénitas han ocurrido desde los tiempos prehistóricos y alguna vez se atribuyeron a intervenciones divinas o satánicas, ó a experiencias aterradoras de las mujeres embarazadas. El nacimiento de un niño malforme se consideraba hace mucho que

presagiaba eventos portentosos en el futuro; de ahí el término "monstruo" de la raíz latina que significa "mostrar ó indicar"³.

Con el fin de dar una explicación con bases científicas a esta clase de sucesos, surge la Teratología, como ciencia que se ocupa de las causas, mecanismos y manifestación de alteraciones estructurales ó funcionales en el desarrollo fetal⁴.

Sin embargo, es en los últimos cuarenta y cinco años, cuando la investigación de la teratogénesis cobra mayor importancia, por el estímulo que experimenta en dos ocasiones por descubrimientos accidentales de un agente externo capaz de producir malformaciones congénitas en el hombre. Es sorprendente el descubrimiento realizado en Australia, donde en 1940, nació un número extraordinariamente grande de niños ciegos y sordos después de una epidemia viral tan ligera como la rubéola. Aún cuando los síntomas de la enfermedad en la madre fueron leves, algunas veces se produjeron efectos serios de la descendencia cuando la infección ocurrió durante el primer trimestre del embarazo. La experiencia sirvió para que se registrara un importante aumento en la experimentación con teratógenos químicos en animales³. Pero se requirió de una catástrofe mayor para demostrar que lo que sucede en animales experimentales puede ocurrir también en los humanos. El desastre de la talidomida en 1960-1962, mostró que un fármaco ordinario también podría producir malformaciones-fetales en gran escala en las poblaciones humanas³.

La acción teratogena de los fármacos está determinada por una serie de factores : genotipo del producto y la forma en la cual éste reacciona con los factores ambientales adversos, estado de desarrollo en el momento de exposición a

estos factores, la naturaleza del agente así como de la dosis⁴.

Debido a las interesantes propiedades farmacológicas atribuidas tradicionalmente a los extractos de Guatteria gaumeri en humano, así como a datos sobre diferentes actividades en rata, se consideró importante el continuar con los estudios toxicológicos.

GENERALIDADES

El razonamiento en la elección de un agente para reducir los niveles del colesterol del suero a menudo implica la interferencia con uno u otro paso en la vía metabólica normal de esta sustancia. Así, se han introducido drogas que inhiben la biosíntesis del colesterol ó su absorción, ó que pueden afectar la degradación ó excreción de este estero⁵.

Los agentes hipocolesterolemiantes más empleados son: colestiramina, ácido nicotínico y dextrotiroxina⁶.

Los hipocolesterolemiantes son empleados en el -- tratamiento de la aterosclerosis⁵.

En lo referente a los efectos tóxicos presentados por los hipocolesterolemiantes se han observado principalmente trastornos gastrointestinales y en el caso específico de la dextrotiroxina su empleo puede estar asociado con arritmias y una intensificación de la angina de pecho⁷.

La corteza y el follaje de Guatteria gaumeri, árbol de la flora yucateca, han sido usados en forma de extracto alcohólico en la medicina maya y por los yerberos de Yucatán para la disolución de cálculos biliares⁸.

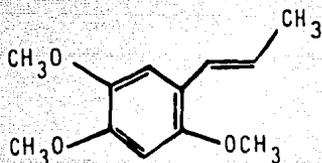
Guatteria gaumeri ha sido clasificada en la familia Anonoceae y es conocida en el sureste de México como Elmuy y el extracto como Yumel⁹.

Es un árbol de 10 a 15 metros de altura, de corteza negra con hojas oval-lanceoladas, verde oscuras de 9 a 11 cms. de largo, con un peciolo de 8 mms., las flores son solitarias, blancas como de 4 cms. de diámetro; el fruto es compuesto, redondo de aproximadamente 2 cms. de diámetro y -

olor desagradable¹⁰.

De esta planta se ha aislado e identificado sus principios activos, encontrándose que el componente de mayor proporción es el 2,4,5, trimetoxipropenilbenceno conocido como α -asarona¹¹, la cual presenta la acción hipocolesterolemizante⁸. Además, se han encontrado asaraldehído y dos propenilbencenos (trans-isoelemicina y trans-isomiristicina) como componentes minoritarios¹¹.

La fórmula condensada de la α -asarona es $C_{12}H_{16}O_3$ con un peso molecular de 208.2, su porcentaje de carbono es de 69.2%, hidrógeno 7.74% y oxígeno 23.04%. Es un sólido blanco, con punto de fusión de 62-63°C, prácticamente insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos como alcohol, éter, cloroformo y tetracloruro de carbono¹².



Se conocen dos isómeros, en la forma alfa (α) -- los hidrógenos de la cadena alquímica se encuentran en posición trans, mientras que en la forma beta (β) en posición cis; esta característica es la que confiere propiedades farmacológicas diferentes entre una y otra.

Otra planta que contiene α -asarona, es Acorus calamus Linn, perteneciente a la familia Araceae¹³.

Acorus calamus presenta una gran desventaja con respecto a Quatteria gaumeri y es que contiene β -asarona, -

la cual es cancerígena.

Estudios farmacológicos y toxicológicos con α -asarona han sido realizados por Mandoki y col.⁸, así como por Gómez y col.¹⁴, observándose que tanto en ratas que recibieron α -asarona por vía subcutánea durante 28 días en una dosis de 60 mg/Kg de peso diarios, como en las que recibieron el fármaco durante 7 días, en una dosis de 300 mg/Kg/día, hubo descensos en la concentración de colesterol en el suero sanguíneo.

También se le han atribuido actividades sobre el Sistema Nervioso Central^{15,16,17,18}.

La dosis letal 50 (DL₅₀) administrada intraperitonealmente a cobayos es de 275 mg/Kg¹². En ratas en cambio -- fue de 122 mg/Kg administrada por la misma vía¹⁴. Datos recientes muestran que la DL₅₀ en ratones vía intraperitoneal fue de 255.5 mg/Kg¹⁹.

Se han efectuado también estudios teratogénicos - en embriones de pollo¹⁹ y de rata²⁰, en los que se ha demostrado que la α -asarona no produce malformaciones congénitas.

O B J E T I V O

El objetivo del presente trabajo es evaluar los posibles efectos teratogénicos presentados por la α -asarona en ratones hembra gestantes, administrada durante el período de organogénesis.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

MATERIAL BIOLÓGICO : R ratones hembra y macho, raza Webster-ta
koni, cepa NHI.

MATERIAL : Cajas Petri
Cánula para administración oral
Espátula
Estuche de disección
Frascos con tapa
Gasas
Guantes para cirujano
Jeringas desechables
Lámpara con lupa
Matraces aforados
Morteros con pistilo
Navajas
Parrilla eléctrica
Piseta
Placas de porcelana para preparaciones
Probetas
Tablas de disección
Vasos de precipitado

EQUIPO : Balanza Analítica Sauter
Balanza Digital Metter PC 4000
Estereomicroscopio Zeiss

REACTIVOS : α -asarona

Aceite de maíz

Acetona

Acido acético glacial

Acido pícrico

Agua destilada

Alcohol al 95%

Sol. 0.005% Alizarina

Cloroformo

Formaldehído

Sol. 20% Glicerina

Sol. 10% Hidróxido de Potasio

Sol. 20% Sulfuro de Amonio

Urea

MÉTODOS :

Para la realización del presente trabajo se dispuso de ratones hembra y macho de la raza Webster-takoni, - de 20 a 23 g de peso.

Los machos se distribuyeron en cajas individuales, mientras que las hembras se colocaron cuatro en cada - caja.

Los animales tuvieron un período de aclimatación de ocho días antes de comenzar el experimento, permaneciendo en un local con una temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y ciclos de luz/obscuridad de 12 hrs. cada uno, hasta el día del sacrificio.

El experimento se inició con la cruce de los machos con las hembras (6 A.M.). El macho era llevado con las hembras, a la caja correspondiente y permanecía ahí durante 3 hrs.

El acoplamiento se verificaba por la presencia - del tapón espermático en la vagina de la hembra, tomando es te día, como día cero de la gestación.

Para verificar el acoplamiento, se tomaba a la - hembra a la altura de las orejas y con el dedo meñique se - sostenía la cola. Con la ayuda de unas pinzas se examinaba la vagina, para detectar si había ó no tapón espermático en ella.

Las hembras ya acopladas se marcaron, pesaron y - distribuyeron aleatoriamente en cuatro lotes, hasta completar veinte en cada uno. Para obtener este número de anima-- les fue necesario disponer de un número mayor de acoplamiento, puesto que algunas de las hembras resultaron ser infér tiles.

El período de tratamiento con la α -asarona, solubilizada en aceite de maíz, fue del 6^o al 15^o día de gestación, administrándose por vía oral.

Todos los tratamientos se administraron en volumen constante por Kg de peso.

Las dosis utilizadas de α -asarona, fueron de 5, 15 y 30 mg/Kg de peso. Al control se le administró únicamente aceite de maíz.

Los pesos se registraron el día de acoplamiento, iniciación y terminación del tratamiento, así como el día del sacrificio (Tablas del no. I al VIII).

Las hembras se sacrificaron al 18^o día de la gestación, introduciendo al animal en un frasco que contenía cloroformo.

Después del sacrificio, se extrajo el útero del cuerpo de la madre y los fetos fueron liberados del saco amniótico con sus respectivas placentas, realizándolo lo más rápido posible.

El útero se introdujo en una solución de Sulfuro de Amonio al 20%, durante aproximadamente 5 minutos, para tener los puntos de implantación. Transcurrido este tiempo, se realizó visualmente el recuento de los puntos de implantación y/o reabsorciones.

Los fetos y las placentas fueron secados con un gasa antes de ser pesados.

Las placentas se contaron y pesaron individualmente, así como también los fetos, anotándose además si éstos estaban vivos ó muertos.

A los fetos se les realizó un minucioso examen exterior para detectar malformaciones.

Para el examen interno se dividieron los fetos, utilizando 1/3 parte para el examen de esqueleto, empleando la Técnica de Dawson²¹, modificada por Staples²², para lo cual se realizó lo siguiente :

1.- Introducir los fetos en alcohol al 95%, durante 4 días.

2.- Remover todos los órganos abdominales y torácicos.

3.- Dejar los fetos en acetona durante 24 hrs.

4.- Trasladar los fetos nuevamente a alcohol al 95% y dejarlos en él durante 48 hrs.

5.- Transferir los fetos a una solución de KOH al 10%, permaneciendo en ella durante 48 hrs.

6.- Colocar los fetos durante 2 días en una solución de alizarina al 0.005%.

7.- Lavar los fetos con agua.

8.- Observar los fetos en el estereomicroscopio para detectar posibles malformaciones esqueléticas. Si no son analizados enseguida, se conservan en Glicerina al 20% con unas gotas de timol (para evitar el crecimiento de hongos).

Las 2/3 partes restantes de los fetos se destinaron para realizar cortes, según la Técnica de Wilson²³, procediendo de la siguiente forma :

1.- Introducir los fetos en una sol. de Bouin* durante un mínimo de 7 días.

2.- Posteriormente se procede a realizar los cortes con la ayuda de una navaja de rasurar :

a) El feto se coloca sobre su espalda y se realiza un corte a la altura del cuello en un plano justo debajo de las orejas, para separar la cabeza del resto del cuerpo.

b) La cabeza se coloca de lado y se realizan 3 cortes de 2-3 mms. de grueso cada uno, empezando arriba de los ojos y continuando hasta la región de las orejas. Estos cortes revelan posibles malformaciones en los ojos y en las regiones anterior y media del encéfalo.

c) Se realiza un quinto corte en la cabeza, - al través de las mandíbulas, removiendo la lengua de la mandíbula superior, para detectar posible paladar hendido.

d) Un último corte se realiza a la altura de la pelvis renal. Este corte revela posibles daños en el riñón.

3.- Cada uno de los cortes se coloca en compartimientos individuales de una placa de porcelana.

4.- Colocar unas gotas de alcohol al 95% en cada corte,

5.- Observar en el estereomicroscopio.

Los resultados que se obtuvieron en la parte experimental fueron computarizados, sometiéndose a tratamiento -

estadístico, empleando las pruebas de "t" de Student y χ^2 -- (para peso (g) y frecuencias respectivamente) a un nivel de probabilidad de 0.05.

* Sol. Bouin (4.3.1) :

Ac. pícrico	39 g
Ac. acético glacial	200 ml
Agua	3 l
Formaldehído	1 l
Urea	42 g

TABLA I

AUMENTO DE PESO PONDERAL
TESTIGO

No. Ratón	ACOPLAMIENTO (Día 0)	INICIACION DE TRATAM. (Día 6 ^o)	TERMINACION DE TRATAM. (Día 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 18 ^o)
P E S O (g)				
2	24.5	29.0	37.4	43.3
10	23.0	28.6	38.7	43.2
24	22.0	25.6	36.5	44.1
26	21.6	22.5	31.5	34.1
33	27.8	29.4	38.3	43.0
37	24.0	25.8	37.0	43.0
38	23.2	26.2	35.0	39.6
43	23.3	26.4	36.4	42.4
48	24.5	28.5	35.5	40.3
51	23.6	25.4	34.1	40.0

TABLA II

AUMENTO DE PESO PONDERAL
TESTIGO

No. Ratón	ACOPLAMIENTO (Día 0)	INICIACION DE TRATAM. (Día 6 ^o)	TERMINACION DE TRATAM. (Día 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 18 ^o)
P E S O (g)				
55	21.3	24.2	37.1	44.5
61	24.3	25.6	34.8	42.2
65	24.4	26.2	39.0	50.1
68	22.6	24.4	33.9	40.6
71	21.7	24.5	34.8	35.2
73	27.0	28.7	34.4	40.2
75	21.4	24.3	34.5	40.1
78	22.8	24.9	37.1	44.0
80	22.7	25.6	34.2	39.9
82	23.8	25.7	37.7	43.9

TABLA III

AUMENTO DE PESO PONDERAL
5 mg/Kg

No. Ratón	ACOPLAMIENTO (Dfa 0)	INICIACION DE TRATAM. (Dfa 6 ^o)	TERMINACION DE TRATAM. (Dfa 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 18 ^o)
P E S O (g)				
1	25.1	27.0	38.5	44.5
4	24.5	25.8	35.1	40.4
6	25.3	27.3	38.9	46.8
8	24.5	26.3	36.3	44.5
12	24.2	26.2	36.4	42.9
17	21.5	24.9	32.8	39.5
21	21.7	22.6	34.4	41.4
22	24.6	24.7	32.0	37.5
27	20.8	23.7	32.8	39.6
30	24.0	26.5	28.9	32.6

TABLA IV

AUMENTO DE PESO PONDERAL
5 mg/Kg

No. Ratón	ACOPLAMIENTO (Día 0)	INICIACION DE TRATAM. (Día 6 ^o)	TERMINACION DE TRATAM. (Día 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 18 ^o)
P E S O (g)				
31	25.4	29.6	40.0	41.5
41	22.9	27.2	37.1	37.5
44	23.0	27.9	36.1	36.3
52	21.6	24.4	35.9	41.2
54	26.8	30.1	41.4	50.2
58	23.0	24.5	30.7	35.1
60	24.4	25.7	35.0	39.4
64	24.1	26.5	38.4	45.7
66	24.0	28.8	36.1	44.8
70	22.9	26.0	36.5	47.3

TABLA V

AUMENTO DE PESO PONDERAL
15 mq/Kg

No. Ratón	ACOPLAMIENTO (Día 0)	INICIACION DE TRAYAM. (Día 6 ^o)	TERMINACION DE TRAYAM. (Día 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 18 ^o)
P E S O (g)				
3	21.5	24.3	33.7	39.6
7	21.9	23.9	29.8	35.1
9	22.7	25.9	31.7	35.7
11	23.0	23.8	28.7	33.6
15	20.9	24.3	30.8	35.8
18	27.6	32.3	43.0	51.5
19	25.9	29.2	28.2	26.8
20	22.1	26.8	34.3	40.6
25	21.7	26.2	35.2	38.3
29	22.0	24.6	32.5	40.3

TABLA VI

AUMENTO DE PESO PONDERAL

15 mg/Kg

No. Ratón	ACOPLAMIENTO (Día 0)	INICIACION DE TRATAM. (Día 6 ^o)	TERMINACION DE TRATAM. (Día 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 18 ^o)
P E S O (g)				
36	23.3	27.7	36.4	43.9
39	24.2	27.1	38.9	46.7
42	24.7	26.3	35.9	41.8
46	23.0	24.5	28.6	32.1
50	21.3	22.4	28.1	33.3
53	26.7	30.6	43.3	51.5
57	20.8	23.0	31.8	36.9
63	22.6	25.8	35.8	43.3
67	21.6	23.4	30.3	36.5
72	22.2	25.5	35.7	42.7
76	21.4	25.3	34.5	40.7

TABLA VII

AUMENTO DE PESO PONDERAL

30 mg/Kg

No. Ratón	ACOPLAMIENTO (Día 0)	INICIACION DE TRAYAM. (Día 6 ^o)	TERMINACION DE TRAYAM. (Día 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 19 ^o)
P E S O (g)				
5	25.8	29.3	40.2	41.7
13	25.9	28.1	33.8	37.2
14	23.7	28.6	36.0	42.0
16	23.6	28.1	38.9	46.5
23	23.3	27.0	36.6	44.0
28	26.8	31.4	43.8	53.2
32	25.2	27.3	36.9	45.0
34	23.0	25.5	31.9	34.3
35	23.1	26.2	33.1	37.7
40	23.4	26.2	33.2	45.2

TABLA VIII

AUMENTO DE PESO PONDERAL

30 mg/Kg

No. Ratón	ACÓPLAMIENTO (Día 0)	INICIACION DE TRATAM. (Día 6 ^o)	TERMINACION DE TRATAM. (Día 15 ^o)	SACRIFICIO (Día 18 ^o)
P E S O (g)				
45	23.0	25.3	34.1	40.6
49	20.3	25.1	30.3	32.5
56	22.9	26.6	36.6	42.4
59	21.8	24.3	32.8	36.1
62	21.2	23.0	29.2	33.8
69	24.2	25.1	32.0	36.1
74	22.7	27.2	35.7	37.9
77	22.6	22.7	27.8	35.5
78	24.4	27.1	32.2	37.8
79	23.3	27.2	34.3	38.5
81	23.1	26.2	33.8	35.0

RESULTADOS Y DISCUSION

AUMENTO PONDERAL.

En la Tabla IX y figura 1 se muestra el porcentaje de aumento de peso de las hembras gestantes, registrados durante los días 6^o, 15^o y 18^o de la gestación.

Se observa que las tres dosis de α -asarona tienden a producir un descenso de peso a partir del primer día de tratamiento (6^o de la gestación), sin llegar a ser éste significativo. Una vez finalizado el tratamiento, el peso se recupera en todos los lotes por igual.

El registro del peso permitió sin ninguna otra manipulación especial, 1^o conocer el estado de salud de la madre y 2^o determinar un posible efecto de la α -asarona en el número de fetos reabsorbidos.

"t" y "X²".

La Tabla X, referente a los resultados encontrados en las madres, muestra en primer lugar, el número de madres fecundadas, es decir aquellas que en el momento del sacrificio presentaron puntos de implantación. Con el número 2 se distinguen las madres normales, ó sea las que no dieron lugar a fetos malformes y en donde el número de reabsorciones embrionarias fue inferior a 1. A continuación con el número 3 se señalan las hembras afectadas, de las cuales se pueden distinguir 3 tipos diferentes : (3.1) aquéllas que únicamente presentaron fetos reabsorbidos en número superior a 1, (3.2) aquéllas que presentaron exclusivamente fetos mal

formes y (3.3) aquéllas que simultáneamente tuvieron reabsorciones embrionarias y fetos anormales.

Como se observa no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) en el número de madres afectadas en relación al -- grupo testigo. Este número, está integrado principalmente -- por madres que presentaron únicamente reabsorciones embrionarias y por las que tuvieron fetos anormales exclusivamente.

En la Tabla XI, se presentan los resultados co--- rrespondientes a los fetos. Se distingue : (1) el número de implantaciones encontradas en el útero, (2) el número de fetos normales y (3) el número de fetos afectados, considerados de dos tipos : (3.1) los que fueron reabsorbidos y (3.2) aquéllos que presentaron anormalidades.

Se observa que el número de fetos afectados debido a la administración de α -asarona es mayor que el de los testigos, lo que se encuentra reflejado en los porcentajes - de 23.2, 23.1 y 24.8, para cada una de las dosis respectivamente. Sin embargo, esta diferencia no es significativa estadísticamente, por lo que carece de significado toxicológico. Así mismo, no se encuentra relación dosis-respuesta, lo que implica que no se haya manifestado el efecto teratógeno. La causa principal de los fetos afectados fue por reabsorcio--- nes, lo que parece indicar que la α -asarona ocasiona ante - todo un efecto de embrioletalidad.

La frecuencia de las anormalidades en el caso de los testigos fue de 12/200 y en los lotes tratados aumentó - a 22/185 con 5 mg/Kg. Las otras dosis disminuyeron la inci--- dencia. Esto desde luego, no indica que la α -asarona pueda tener algún efecto protector si se compara con el testigo.

En experimentos realizados con esa misma cepa de animales, se ha observado que la frecuencia de anomalías espontáneas era de ese orden. Así mismo, otras razas de animales presentan una incidencia variable, lo que posiblemente se deba al patrimonio genético característico. En muchas ocasiones, este fenómeno dificulta el establecer algún límite entre las malformaciones espontáneas y las provocadas, y por tanto establecer la teratogenicidad de un producto.

Como se observa en la Tabla XII, los pesos promedio placental y fetal no fueron afectados por ninguno de los tratamientos. Aunque en algunos casos se observaron fetos -- con falta de desarrollo, éste no cambió el promedio general.

Debido a que la α -asarona se administró después de la implantación, era también de esperarse que el promedio de las implantaciones por madre no debía alterarse. En efecto, aunque se observa una tendencia a disminuir conforme aumenta la dosis, ésta no tiene ningún significado. Sí en cambio, todas las dosis acusaron diferencias significativas --- ($p < 0.05$) en lo que respecta al número de fetos por madre, -- lo que es el reflejo del aumento en las reabsorciones embrio--narias.

En lo que respecta al tipo de malformaciones encontradas en los fetos se observa en la Tabla XIII que según el examen externo, en todos los lotes se encuentran fetos -- presentando hematomas. Estos se localizaron en diferentes -- partes del cuerpo, pero principalmente en la cabeza y extremidades. Tal parece ser que esta anomalía es común a la cepa utilizada, y no ha sido potenciada en no. y gravedad por la administración del fármaco. Como anomalía particular, no encontrada en los testigos, hubieron casos de fetos con falta de desarrollo, torcedura de cola y muertos.

El examen del esqueleto no arrojó ninguna anomalía y el análisis de Wilson, en cambio, mostró hendidura del paladar en todos los lotes. Aunque esta malformación no es muy común en esta raza de ratones, algún factor desconocido pudo haberla provocado. Sin embargo, la frecuencia de aparición es similar en cada grupo.

TABLA IX

AUMENTO DE PESO PONDERAL DE RATONES TRATADOS
 CON α -ASARONA DURANTE LA ORGANOGENESIS

$$\bar{x} \pm \sigma$$

DIA DE LA GESTACION	TESTIGO (ml/Kg)	TRATAM.		
		5	15 (mg/Kg)	30
0	23.47	23.71	22.90	23.49
	\pm	\pm	\pm	\pm
	1.70	1.52	1.89	1.53
6 ⁰	26.07	26.28	25.85	26.54
	\pm	\pm	\pm	\pm
	1.86	1.90	2.49	2.02
15 ⁰	35.89	35.66	33.67	34.43
	\pm	\pm	\pm	\pm
	1.92	3.11	4.39	3.69
18 ⁰	41.68	41.43	39.36	39.62
	\pm	\pm	\pm	\pm
	3.41	4.46	6.10	4.99

FIGURA 1

AUMENTO DE PESO PONDERAL DE RATONES TRATADOS
CON α -ASARONA DURANTE LA ORGANOGENESIS.

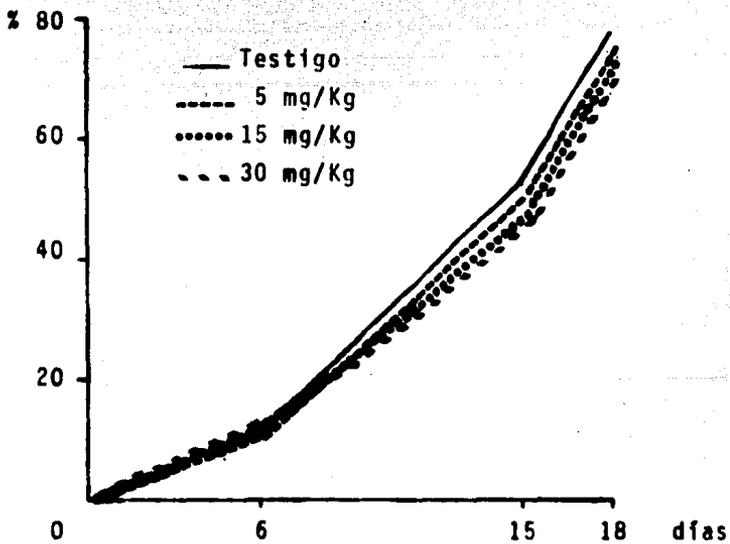


TABLA X
MADRES AFECTADAS

HEMBRAS	TESTIGO (ml/Kg)	TRATAM.		
		5	15 (mg/Kg)	30
1. Fecundadas	20	20	21	21
2. Normales	11	11	10	10
3. Afectadas	9	9	11	11
(%)	(45.0)	(45.0)	(52.3)	(52.3)
3.1 Por reabsorciones	4	2	7	5
3.2 Por anomalías	5	5	3	4
3.3 Por reabsorciones y anomalías	0	2	1	2

TABLA XI

FETOS AFECTADOS

	TESTIGO (ml/Kg)	TRATAM.		
		5	15 (mg/Kg)	30
1. Implantaciones	200	185	199	193
2. Fetos normales	180	152	173	165
3. Fetos afectados (%)	28 (14.0)	43 (23.2)	46 (23.1)	48 (24.8)
3.1 Por reabsorciones	16	21	36	37
3.2 Por anomalías	12	22	10	11

TABLA XII

PROMEDIOS

$$\bar{x} \pm \sigma$$

	TESTIGO (ml/Kg)	TRATAM.		
		5	15 (mg/Kg)	30
Peso promedio fetal	1.21	1.21	1.23	1.19
	\pm 0.13	\pm 0.09	\pm 0.09	\pm 0.10
Peso promedio placentar	0.09	0.09	0.08	0.09
	\pm 0.01	\pm 0.01	\pm 0.01	\pm 0.01
Implantaciones/madre	10.00	9.25	9.47	9.19
	\pm 1.52	\pm 1.61	\pm 2.31	\pm 2.11
Fetos/madre	9.20	8.20	8.15	7.42
	\pm 1.60	\pm 2.48*	\pm 2.20*	\pm 2.52*

TABLA XIII

DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATONES
TRATADOS CON α -ASARONA DURANTE LA ORGANOGÉNESIS

Examen	Testigo	5 mg/Kg	15 mg/Kg	30 mg/Kg
Externo	8 f. hematoma	8 f. hematoma	4 f. hematoma	3 f. hematoma
		6 f. falta de desarrollo	2 f. torcedura de cola	1 f. falta de desarrollo
		2 f. torcedura de cola		2 f. muertos
*	192	164	163	156
Alizarina	-	-	-	-
*	72	54	50	51
Wilson	4 f. paladar hendido	5 f. paladar hendido	4 f. paladar hendido	5 f. paladar hendido
		1 f. hidronefrosis unilateral		
*	120	110	113	105

* Número de fetos examinados.

C O N C L U S I O N E S

1.- La administración oral de la α -asarona a dosis de 5, 15 y 30 mg/Kg, no afectó el aumento de peso ponderal de las madres en el transcurso de la gestación.

2.- Una vez ocurrida la implantación del huevo - en el útero, la α -asarona provoca reabsorciones embrionarias que guardan relación con la dosis.

3.- No se encontró efecto teratógeno, ya sea tomando en cuenta el número de madres que dieron lugar a fetos afectados ó el número de fetos afectados por sí mismo. - Esta apreciación permite por una parte estudiar el riesgo - que puede tener ó no una camada y por la otra el de cada feto en particular.

4.- El tipo de anomalías encontradas en el lote testigo y los tratados fue común, atribuyéndose por lo tanto a la cepa del animal empleado. Por otra parte, la frecuencia de dichas anomalías en todos los grupos es similar.

5.- El presente estudio, sumado al previamente efectuado en ratas, muestran que la α -asarona no afecta -- las variables de la reproducción indicadas.

6.- Es necesario efectuar estudios con especies -- no roedoras a fin de tener una conclusión más amplia.

7.- Así mismo, y con el prospecto de que este -- principio activo pudiera constituirse en el futuro en un posible fármaco, es necesario el llevar al cabo muchos otros -- estudios toxicológicos a corto y largo plazo.

B I B L I O G R A F I A

1. Galli, C. and Paoletti, R. Chemical Toxicology of Food. - Elsevier/North Holland Biomedical Press, Notherland, 1978 p.p. 147-152.
2. Repetto, M. Toxicología Fundamental. Científico Médica, - España, 1981. p.p. 143-156.
3. Goldstein, A. Farmacología. Limusa, México, 1978. p.p. -- 827-855.
4. Wilson, J. Environmental Sciences. An Interdisciplinary - Monograph'Series. Academic Press, New York, 1973. p.p. -- 1-34, 83-109, 121-136.
5. Drill, V. Farmacología Médica. La Prensa Médica Mexicana, México, 1978. p.p. 1300-1311.
6. Goodman, L. y Gilman, A. Bases Farmacológicas de la Tera- péutica. Interamericana, S.A., México, 1978. p.p. 636-633
7. Katzung, B. Farmacología Básica y Clínica. El Manual Mo- derno, México, 1984. p.p. 373-385.
8. J. Mandoki y col. Aislamiento de la Asarona de la Corteza de Guatteria gaumeri (Elemuy) y el Estudio de su Acción - Hipocolesterolemianta. IV Congreso Nacional de Farmacolo- gía, Mérida, Yucatán. (1980).
9. Herbario. Anonoceae. Guatteria gaumeri. Escuela Nacional- de Ciencias Biológicas. I.P.N.
10. Martínez, M. Plantas Medicinales de México. Botas de Mé- xico, 1969. p. 43.
11. R. Enríquez, M. Chávez and F. Jáuregui. "Propenylbenzenes from Guatteria gaumeri". Phytochemistry, 19, 2024-2025 -- (1980).

12. The Merck Index. 9a. Ed. p. 845 (1976).
13. J. M. Taylor et al. "2,4,5, trimetoxipropenylbenzene (alfa asarone)". Chem. and engineering News, 16, 24 (1979).
14. Gómez, C. Actividades farmacológicas de la -asarona. Té sis Profesional. E.N.C.B. México. 1986.
15. J. D. Sharma and P. C. Dandiya. "Studies on Acorus calamus. Pharmacological actions of alfa and beta-asarone on cardiovascular system and smooth muscles". In. R. Med. -- Res., 50 (1), 61-65 (1962).
16. P. C. Dandiya and M. K. Menon. "Action of asarone on ---- behavior stress and hiperpyrexia and its interaction with central stimulants". J. Pharmacol. exp., 145, 42-46 ---- (1964).
17. M. K. Menon and P. C. Dandiya. "The mechanism of the tran quilizing action of asarone from Acorus calamus Linn". J. Pharm. Pharmacol., 19, 170-175 (1967).
18. P. C. Dandiya and H. Collumbine. "Studies on Acorus calamus III. Some pharmacological actions of the volatile --- oil". J. Pharmacol. exp. ther., 125, 353-359 (1960).
19. E. Y. Yabiku. "Oleo de cá lamo: Aspectos toxicológicos e - seu controle en bebidas alcoolicas". Universidad de Sao - Paulo. (1980).
20. Jiménez, L. Extracción, identificación y efecto teratóge no del 2,4,5, trimetoxipropenilbenceno (-asarona) en ra ta. Té sis Profesional. E.N.C.B. México. 1980.
21. A. Dawson. "A note on the Staining of the Skeleton of --- Cleared Specimens with Alizarin Red S". Stain Techn., 1, 123-124 (1926).

22. R. E. Staples and V. Schnell. "Refinements in Rapid Clearing Technic in the KOH-Alizarin Red S Method for Fetal Bone". Stain. Techn., 39, 61-63 (1964).
23. J. G. Wilson and J. Walkany. "Teratology principles and techniques". The University of Chicago. Press, Chicago, 10 251 (1965).
24. D. L. Opdyke. "Calamus oil". Food Cosmet. Toxicol., 5, 623 626 (1977).
25. C. Roux and R. Dupuis. "Action tératogène du triparanol". - C. R. Sec. Biol., 155, 2555-2557 (1961).
26. C. Roux and M. Aubey. "Action tératogène chez le rat d'un hypocholestérolémiant". C. R. Soc. Biol., 160, 1353-1359 - (1966).
27. J. Sánchez y col. "Acción hipocolesterolemiant de Guatteria gaumeri". Medicina Tradicional, 9, 20-22 (1968).
28. J. Sánchez y A. Lerdo de Tejada. "Acción hipolipemiant de Guatteria gaumeri, en un paciente con hiperlipidemia tipo-II b". Medicina Tradicional, 9, 22-24 (1980).
29. J. Wilson and Walkany. "Teratology principles and techniques". University of Chicago, 10, 251 (1965).