

Nº 15
B.F.V.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"Estudio histológico en ratas Wistar tratadas
con α - asarona (50 mg/Kg) durante 153 días"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
AUREA LUZ ARCINIEGA RUIZ DE ESPARZA

ASESORES:

DR. GERMAN A. CHAMORRO CEVALLOS

DR. OLGA E. L. ARCINIEGA RUIZ DE ESPARZA



México, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

INDICE

TEMA	PAGINA
RESUMEN	1
HIPOTESIS	2
OBJETIVOS	2
INTRODUCCION	
a) ANTECEDENTES	3
b) GENERALIDADES SOBRE LA <i>Guatteria gaumeri</i>	6
c) FARMACOS ANTILIPIDEMICOS	12
MATERIAL Y METODOS	15
RESULTADOS	18
DISCUSION	37
CONCLUSIONES	39
LITERATURA CITADA	40
APENDICES	44

RESUMEN

ARCINIEGA RUIZ DE ESPARZA AUREA LUZ. Estudio histológico en ratas wistar tratadas con alfa asarona (50 mg/Kg) durante 153 días (bajo la dirección de los doctores Germán A. Chamorro Cevallos, y la C. a Dr. Olga E.L. Arciniega Ruiz de Esparza).

Se utilizaron 62 ratas wistar, 28 machos y 34 hembras, se formaron dos lotes, siendo un grupo testigo y el otro tratado, este último recibió durante 153 días un tratamiento a base de alfa asarona (50 mg/Kg) incorporada a nutricubos para roedores.

Los animales fueron sacrificados por dislocación cerebral previa anestesia con cloroformo. Posteriormente, los órganos que se obtuvieron fueron pesados, identificados y fijados en solución de formaldehído al 10% para su posterior análisis microscópico.

Una vez estudiadas las muestras macroscópica y microscópicamente, los resultados fueron analizados estadísticamente para corroborar si existen o no diferencias significativas entre los animales testigo y los tratados con alfa asarona.

HIPOTESIS

La administración de la alfa asarona por vía oral, en dosis repetidas de 50 mg/Kg de peso durante 5 meses en ratas wistar, no causa alteraciones tisulares.

OBJETIVOS

- Estudiar la eventual actividad tóxica de la alfa asarona en ratas, a nivel de tejidos, después de la administración prolongada.
- Valorar mediante pruebas biológicas y estadísticas las posibles alteraciones producidas por la alfa asarona en la morfología de los riñones, hígado, estómago, ciego e intestino delgado (duodeno).

INTRODUCCION

I. Antecedentes sobre el empleo de *Guatteria gaumeri* en medicina popular.

Desde la aparición del hombre en la tierra se inicia la práctica de la medicina. Los hechos mismos que realizaron los hombres primitivos en forma instintiva, de inmovilizar articulaciones o huesos fracturados en un combate o en una cacería, la acción de comprimir una región anatómica, detener una hemorragia, lamer una llaga, o de espulgarse unos a otros, fueron quizás las acciones más sencillas de esta práctica (3).

Los descubrimientos arqueológicos realizados sobre el hombre de Neanderthal en Alemania (14), que data de hace 60,000 años, indican que en épocas remotas ya se usaban algunas plantas medicinales que aún figuran en la herbolaria tradicional, entre ellas el senecio (*Senecio spp.*) la mil en rama (*Achillea millefolium*) y el malvavisco (*Malvavisco spp.*) (27).

En la farmacopea mexicana se incluye al peyote (*Lophophora williamsii*) que fue apreciada primero por sus propiedades alucinógenas, pero su empleo ritual condujo al descubrimiento de su eficacia para curar moretones y heridas, hoy se sabe que además contiene sustancias desinfectantes (40).

El papel del curandero ha sido de inmensa importancia en todas las clases sociales de México antiguo. En este caso el conocimiento profesional de las yerbas medicinales hacía que sus servicios fueran estimados. Se veneraba al dios Ololúkqui, dios de las yerbas e inclusive, existían especialistas en yerbas narcóticas llamados Payni (1).

En los pueblos mayas las ideas sobre enfermedad guardaban una estrecha relación con las concepciones morales y religiosas. El olvido de una ofrenda o la omisión de elevar una plegaria a los muertos podría ser la causa de algún padecimiento. Se decía que el hombre, cuya alma está en paz, podría disfrutar de buena salud. Existía la enfermedad de los malos vientos, había ciertas plantas especiales para curarlas o prevenirlas, se requería de tiempo largo, siendo necesario adquirir sabiduría pronóstica y la exacta significación de las imágenes reflejadas en el agua o la caída de los granos gordos de maíz y eran los curanderos o los médicos brujos los que se encargaban de estos menesteres (3).

En la actualidad, no hay población que no cuente con un curandero, ni mercado que no tenga por lo menos un puesto de hierbas medicinales. En los mejor provistos no solo se encuentran productos locales, sino plantas traídas de muchos países. Incluso, entre la gente que presume de no recurrir jamás a los yerberos, no hay quien no haya tomado alguna vez, a instancia de la abuela o de una vieja criada un té de tila y azahar para calmar los nervios, una infusión de cabellos de elote para depurar los riñones o una manzanilla para ayudar a la digestión (40)

En los últimos decenios, la fitoterapia ha comenzado a recuperar el puesto que antaño tenía junto a otros métodos curativos, ayudada por nuevos conocimientos y un análisis objetivo, así, poco a poco, se le ha despojada de su carga emocional o mística. Al comprender los científicos el provecho que se puede obtener de la herbolaria, se han puesto a estudiar las plantas, para determinar el cómo y el por qué de los efectos.

Por otra parte, las plantas siguen proporcionando la materia prima para gran número de fármacos que se usan actualmente. Ahora, los botánicos, médicos y farmacólogos, están por fin trabajando juntos en el campo de la herbolaria, es posible que la transformen en un recurso más valioso para los miles de millones de personas que no cuentan con otros medios para la curación de sus males (40).

La mayor parte de los medicamentos que se utilizan en la actualidad se han encontrado en forma empírica y semi empírica. Cuando se logra encontrar algún extracto con actividades farmacológicas, se aísla y se purifica el principio activo, se caracteriza químicamente y se toma esta sustancia como modelo y en base a su estructura se sintetizan varios compuestos similares. Independientemente del camino seguido para encontrar un nuevo fármaco, este debe someterse a un estudio muy estricto para poder evaluar la potencia, la eficacia y la seguridad de los medicamentos (4).

Antes de salir al mercado, cualquier fármaco se debe someter a estudios farmacológicos y toxicológicos. Los primeros sirven para determinar la actividad y los segundos, para establecer su seguridad relativa (4,20).

Los estudios toxicológicos comprenden:

- toxicidad aguda
- toxicidad subaguda
- toxicidad crónica
- estudios especiales

Los estudios en humanos abarcan varias etapas como:

- valoración farmacológica preliminar
- valoración clínica básica controlada
- valoración clínica amplia

PRUEBAS DE SEGURIDAD

Toxicidad aguda: el objetivo de esta prueba es determinar la dosis letal (DL_{50}). Se utilizan generalmente dos especies, ratón y rata, se emplean dosis únicas, algunas de ellas letales. Esta prueba permite también detectar la sintomatología de las intoxicaciones. Se puede observar la tolerancia de especie y la mejor vía de administración. Si el animal muere rápidamente suele deberse a la actividad farmacológica, y si la muerte se presenta tardíamente, puede deberse a un metabolito (4, 11).

Toxicidad subaguda: se utilizan usualmente dos especies. El objetivo de esta prueba es determinar las diferentes dosis cercanas a la terapéutica y otras próximas a la dosis tóxica. Mientras mayor sea el uso clínico esperado, mayor será la prueba subaguda. Durante el tiempo que dure el estudio deberán practicarse pruebas de química clínica (función hepática, renal, etc.) (4,20).

Toxicidad crónica o a largo plazo: esta prueba se caracteriza por su larga duración de meses e inclusive varios años. Se utilizan usualmente dos especies de animales (rata, perro). El objetivo de esta prueba es determinar los niveles tóxicos y la toxicidad media.

Mientras se desarrolla este estudio, se deberán cuantificar el aumento o pérdida de peso, la condición física del animal y medirse la velocidad de absorción, distribución, excreción del tóxico y algunos de sus catabolitos (19).

Los estudios especiales comprenden a su vez, las pruebas de mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis.

Teratogénesis química: forma parte de los estudios sobre reproducción, los cuales abarcan desde estudiar el daño en los gametos masculinos y femeninos (10) que pudieran dar como resultado la esterilidad y producción de descendencia anormal.

Para investigar esta, se efectúan estudios sobre:

- Espermatogénesis en perro Beagle
- Los efectos tardíos en la descendencia
- El efecto en la embriogénesis propiamente dicha
- Los efectos tardíos en la descendencia
- El efecto en el metabolismo de la madre
- Los efectos en la producción láctea (4)

Carcinogénesis y mutagénesis : muchas sustancias químicas son capaces de producir cáncer en animales y humanos, se recomienda que el periodo de administración del medicamento no sea mayor de dos años para ratas y hámsters y de dieciocho meses para el ratón e inclusive períodos tan largos como siete años han sido recomendados para el perro para la producción de tumores de vejiga urinaria (4).

Existen muchas pruebas para obtener información sobre los efectos de toxicidad en órganos o aparatos específicos, como pruebas de toxicidad en mucosa (acrosoles), capacidad ventilatoria, oculares (shampoos, jabones, etc.), óticos (cambios de conducta locomotora a causa de sonido).

II. GENERALIDADES SOBRE LA FARMACOLOGIA DEL MEDICAMENTO

Nombre científico: *Guatteria gaumeri* Greenman

Nombre común: Eklemuy, eklemuy Box (Yucatán), Elemoy, Yumel (Yucatán), Nazareno prieto (Oaxaca). Familia: Anonáceas. Forma biológica: arbustiva. Tipo de vegetación: bosque.

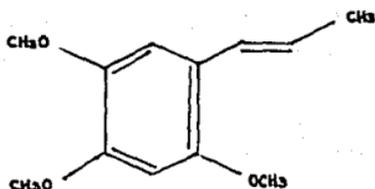
Características : árbol de unos 10 a 15 m., de corteza negra con hojas ovalolanceoladas, acuminadas, enteras y glabras, verde oscuras, de 9 a 11 centímetros de largo con un peciolo de 8 mm. Flores solitarias, blancas como de 4 cm. Fruto compuesto, redondo, como de 2 cm de diámetro con los frutitos estipitados; tiene olor desagradable (26,29).

Se han aislado e identificado sus principios activos y el que se ha encontrado en mayor proporción es el 2,4,5 trimetoxipropenilbenceno α -asarona (24), el cual presenta acción hipocolesterolemiaante (7).

La fórmula condensada de la α -asarona es de $C_{12}H_{16}O_3$ con un peso molecular de 208.2, su porcentaje de carbono es de 69.2% de hidrógeno, 7.74 % y de oxígeno 23.04%.

Es un sólido blanco, con un punto de fusión de 62 a 63°C, insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos como alcohol, éter, cloroformo y tetracloruro de carbono. Se conocen dos isómeros, uno en posición *trans* de la forma alfa, y otro en posición *cis* en la forma beta (31).

FORMULA QUIMICA DE LA ALFA ASARONA



Trans 2,4,5 trimetoxi-1-propenilbenceno

El cáalamo aromático (*Aconis calamus*) también llamado ácaro o calomel dulce, familia Anaceae, contiene α asarona y β asarona con actividad carcinogénica (39).

A la α -asarona se le han atribuido diversas actividades sobre el sistema nervioso central (8). La α -asarona prolongó el sueño inducido por barbitúricos o alcohol, causó hipotermia y acción tranquilizante en gatos hostiles (8).

La dosis letal al 50% DL₅₀ administrada intraperitonealmente a cobayos es de 275 mg/Kg (31), y en ratas es de 122 mg/Kg (8).

Administrada por la misma vía (39) en ratones, es de 225.5 mg/Kg (48).

Se han efectuado también estudios teratogénicos en embriones de pollo (48), de rata (19) y de ratón (27) en los que se ha demostrado que la α -asarona no produce malformaciones congénitas).

La hipocolesterolemia y la hipolipoproteinemia apresuran notablemente la aterosclerosis. La acción más aceptada en la actualidad acerca de la génesis de la aterosclerosis se relaciona con acumulaciones anormales de lípidos en la pared arterial (34). Esta enfermedad es caracterizada por las deformaciones en la túnica media de los vasos sanguíneos que disminuyen la luz arterial, dañan la túnica media subyacente, además, tiende a experimentar complicaciones sobreañadidas como calcificación, ulceración, conformación de trombos subyacentes y hemorragias dentro de las placas que agravan la estenosis o causan oclusión completa (35).

El centro de las placas a menudo contiene restos gruesos ricos en lípidos que proceden principalmente del colesterol y ésteres de colesterol (34).

Los factores que influyen en la presentación son: edad, sexo, herencia, tabaquismo intenso, hipertensión, hipotiroidismo, diabetes sacarina, dietas ricas en carbohidratos, obesidad, ocupaciones sedentarias, personalidad enérgica, vida sometida a tensiones e hipercolesterolemia (17,35).

A la α -asaron se le han atribuido actividades:

- hipocolesterolemiantes
- litolíticas vesiculares
- urolíticas (13)

La acción de hiperlipidemia y enfermedad de las arterias coronarias está bien establecida, una asociación que es más notable en la población más joven. Aunque no hay pruebas concluyentes a la fecha que indiquen que abatiendo los lípidos elevados anormalmente detengan o retarden el progreso de la enfermedad de las arterias coronarias, es prudente detectar estas elevaciones y usar medidas dietéticas o farmacológicas para reducir estos valores o niveles dentro de límites normales o cuando menos hacerlos descender. Generalmente hay acuerdo de que mientras sean más bajos los niveles de lípidos en sangre, hay menos riesgo de adquirir la enfermedad de las arterias coronarias (43).

El contenido elevado de lípidos en la sangre como una anomalía en relación con la enfermedad de las arterias coronarias ha recibido mucha atención recientemente.

Los lípidos de la sangre (colesterol, triglicéridos y fosfolípidos), circulan en el plasma ligados a proteínas de aquí el término de lipoproteínas (41,43).

Con propósitos prácticos son importantes dos tipos de hiperlipidemias en la enfermedad cardíaca: el tipo 2, en el cual el colesterol está elevado y los triglicéridos son normales o están ligeramente elevados y el tipo 4 en el cual el colesterol es normal y los triglicéridos están elevados.

La designación normal para el colesterol y triglicéridos varía entre poblaciones y grupos de edad. El límite superior aceptado generalmente para lo normal es de 250 mg para el colesterol y de 150mg para los triglicéridos (43).

Cuadro No. 1

Concentraciones de colesterol, triglicéridos o lipoproteínas de baja densidad que si se exceden indican claramente hiperlipidemia

EDAD	COLESTEROL	TRIGLICERIDOS	LIPOPROTEINAS DE BAJA DENSIDAD
> 29 años	240	140	170
30-39 años	270	150	190
40-49 años	310	160	190
+ 50 años	330	190	210

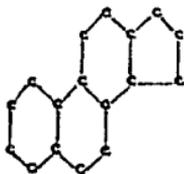
(Fuente: Tilkian, S.M., Boudreau, MC. and Tilkian, A.G.: Clinical implications of laboratory test. 2th ed. C.V. Mosby.London 1979.

III. GENERALIDADES SOBRE LOS ESTEROIDES Y COLESTEROL

Los esteroides

Los triglicéridos, las ceras, las lecitinas, cefalinas, fosfolípidos, esfingomielinas y cerebrosídeos, son lípidos saponificables que tienen uno o varios enlaces tipo éster.

Casi todos poseen la estructura básica siguiente:

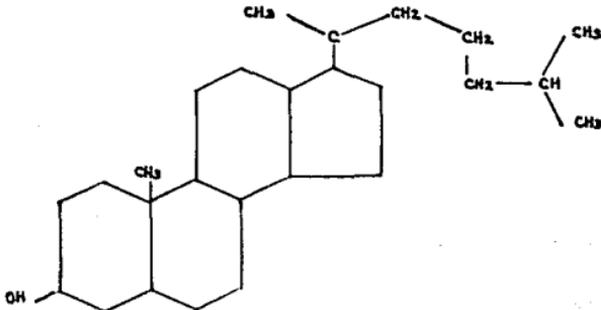


A pesar de ello, los esteroides individuales presentan una asombrosa serie de efectos fisiológicos que van desde la actividad vitamínica, hasta la actividad sexual.

Algunos son emulsificantes de las grasas y se encuentran en la bilis, otros son hormonas importantes: una estimula el corazón (adrenalina), y otra es parcialmente responsable del endurecimiento de las arterias; otra más produce ruptura de eritrocitos.

Quizás el esteroide más abundante es el colesterol, del griego *χολε* = bilis *στερος* = sólido *ολ* = alcohol

El nombre de colesterino fué propuesto por Chervreul en 1827 para la sustancia aperlada que se encuentra en los cálculos biliares y que él consideró como bilis modificada.



Se encuentra en casi todos los tejidos de los vertebrados, particularmente en el cerebro y la médula espinal.

Es el principal constituyente en los cálculos biliares. Los seres humanos y los animales superiores pueden sintetizar colesterol y la evidencia más reciente en 1968 indica que el organismo lo fabrica a partir del ácido acético a través de cerca de 30 etapas distintas, a pesar de ello, el organismo parece realizarlo en unos cuantos segundos.

Sin embargo, se considera generalmente que el cuerpo usa el colesterol como materia prima para otros esteroides. También parece ser responsable, cuando menos en parte, del endurecimiento de las arterias (18).

Colesterol

El colesterol existe en el cuerpo tanto en forma libre como esterificado (combinado con ácido graso). La mayor parte del colesterol ingerido se esterifica en el intestino y se absorbe como tal en la linfa. El hígado sintetiza colesterol a partir del acetato. Probablemente esta síntesis se inhibe por un alto nivel de colesterol circulante.

El colesterol se usa en el cuerpo para formar ácido cólico en el hígado, que a su vez, forma sales biliares importantes para la digestión de las grasas.

Una pequeña proporción se usa en la formación de hormonas por las glándulas suprarrenales, ovarios y testículos. Una gran cantidad se usa para hacer a la piel altamente resistente a la absorción de sustancias solubles en el agua.

La concentración de colesterol en la sangre está influida por hormonas de la tiroides y estrógenos que provocan su descenso. El colesterol del plasma se eleva cuando el flujo biliar está obstruido y también en la hipercolesterolemia hereditaria y en la *diabetes mellitus* no tratada a pesar de que en esta enfermedad está disminuida su síntesis (43).

En algunos estratos sociales, existe interés sobre los valores de colesterolemia ya que la hipercolesterolemia es un riesgo muy difundido para la enfermedad arterial coronaria.

Es importante recordar que los valores normales para el colesterol se definen en forma convencional y existe mucha variación en diferentes poblaciones y grupos de edad.

1. La enfermedad hepática asociada con obstrucción biliar se ve acompañada por niveles elevados de fosfatasa alcalina y bilirrubina.
2. En la etapa nefrótica de la glomerulonefritis se pueden encontrar creatinina elevada y prueba de nitrógeno ureico en sangre (BUN)
3. En la denominada hipercolesterolemia familiar

Otras causas de la hipercolesterolemia son hipotiroidismo, pancreatectomía y disfunción pancreática como en la *diabetes mellitus* y en la pancreatitis crónica.

En la hipocolesterolemia (150mg/Kg), un nivel bajo de colesterol en la sangre puede reflejar hábitos alimentarios, desnutrición, enfermedades hepáticas extensas y posiblemente hipertiroidismo que produce un nivel bajo de colesterol total.

Otras condiciones que pueden estar asociadas con hipocolesterolemia son la sepsis grave, las anemias (megaloblástica e hipocrómica) la deficiencia de lipoproteínas alfa y beta, y ciertas deficiencias enzimáticas asociadas con el metabolismo del colesterol (43).

Para el tratamiento de la hipercolesterolemia se han empleado desde hace tiempo varios fármacos, algunos de los cuales se describen a continuación.

Fármacos Antilipidémicos

Neomicina. Este antibiótico aminoglicósido tiene varios grupos que forman cationes en su molécula y es fuertemente básico.

Interfiere con la formación de micelas estabilizadas por sales biliares, que son necesarias para la digestión de triglicéridos y la absorción de lípidos y en esta forma ejerce una acción hipolipidémica. Aunque se absorbe poco, si se emplea en dosis altas, es posible que provoque toxicidad sistémica al alterar la fase micelar del contenido intestinal, disminuyendo la absorción de colesterol (5).

La excreción de ácidos biliares es aumentada y las reservas corporales totales de colesterol disminuyen. El mecanismo de acción de este fármaco comprende su basicidad que da como resultado la conjugación de ácidos biliares (20,23).

Niacina. Factor alimentario esencial que se encuentra en levaduras y en el hígado (49).

El ácido nicotínico es captado por el tejido adiposo e inhibe la liberación de ácidos grasos libres por adipocitos, por lo cual produce una disminución de fosfolípidos, ácidos grasos libres, triglicéridos y niveles de colesterol (21) lo que da como resultado una disminución plasmática de ácidos grasos libres. El ácido nicotínico establece competencia con los ácidos grasos libres, para la fijación de albúmina plasmática, también altera la esterificación del colesterol que disminuirá la síntesis de lipoproteínas, y aumenta el metabolismo oxidativo del colesterol por mitocondrias proporcionando bióxido de carbono (5).

Probucol. Disminuye los valores de colesterol (5), es posible que inhiba la colesterogénesis (23) y la absorción del colesterol (5).

Fitosteroles. Al parecer, inhiben la resorción del colesterol endógeno y son mal absorbidos por el intestino (20).

Hiposterol. Ejerce una acción colerética, ligera acción hipotensiva y una acción hepatoprotectora. Disminuye la colesterolemia en ratas, conejos y pollos, y puede disipar las lesiones ateromatosas a nivel de la aorta (16).

Esteroides vegetales. Se ha demostrado que disminuyen los niveles séricos de colesterol, las beta lipoproteínas y lípidos de baja densidad (21,23). Parece ser que el beta sitosterol incrementa la velocidad de degradación del colesterol de la mayoría de los tejidos pero su efecto hipocolesterolemico es variable e impredecible (21).

Tripananol. Se encontró que el tripananol es un potente inhibidor de la biosíntesis del colesterol (12).

Clofibrato. Reduce el nivel de colesterol y triglicéridos en sangre (49). Causa efecto hipocolesterolemico que puede relacionarse en parte al bloqueo de la biosíntesis del colesterol (23), también provoca una disminución de los niveles séricos de los triglicéridos (47).

Gambibrocll. Es un análogo del clofibrato recién sintetizado que disminuye la lipólisis en el tejido adiposo.

Boxidina. Es un agente antilipémico con efectos mil veces mayores que el clofibrato y 50 veces más que el tripananol.

Este compuesto baja los niveles de colesterol triglicéridos y fosfolípidos sin embargo, puede involucrar la inhibición de la absorción del colesterol (41).

Inhibidores de la HMG-CoA. A partir de los hongos se han obtenido inhibidores competitivos potentes de la biosíntesis del colesterol (23).

Heparina. Es un potente anticoagulante (22 y 49). Se demostró que la administración parenteral en pacientes con niveles de lípidos elevados, produce una reducción de colesterol y triglicéridos séricos.

El resultado de la administración de heparina es una disminución de las lipoproteínas de baja densidad y quilomicrosomas en el plasma (21 y 44)

Dextrotirosina (Cholonix). Es un análogo sintético de la tiroxina. La dextrotirosina aparentemente retiene algunos efectos calorigénicos que su utilización puede estar asociada con arritmias y una angina de pecho aumentada (20).

Compuesto AY-9944. Es un potente agente hipocolesterolemico aunque diez veces menor que la boxidina (12). Administrada oralmente en ratones baja los niveles séricos (12), las evidencias indican que el compuesto inhibe la biosíntesis de colesterol en el paso de conversión de 7-dehidrocolesterol a colesterol.

Estrógenos. Hormonas sexuales femeninas responsables de la estimulación, desarrollo y mantenimiento de los caracteres sexuales secundarios femeninos (22 y 5).

Parece ser que no tienen función en el tratamiento de la hiperlipidemia, pero en los hombres que recibieron estrógenos indujeron a un incremento de los niveles de lipoproteínas de muy baja densidad.

En algunos pacientes aumentan la concentración sérica de triglicéridos (13 y 16)

Hormonas tiroideas. Con cierta frecuencia la actividad hipertiroidea se asocia con el incremento en el metabolismo del colesterol en la cual se incluye la biosíntesis y el metabolismo del colesterol (12 y 21).

Drogas adrenocorticoideas. Solo la corticotropina o ACTH y la tetraposactrina tienen uso como hipocolesterolemiantes (25). Su mecanismo de acción no está muy claro solo se sabe que actúan sobre el metabolismo de lípidos.

Modificadores de la dieta. Es importante la dieta, para la prevención y el tratamiento de la arteriosclerosis, con regularidad se planea reducir la obesidad reduciendo el consumo de grasa saturadas por alimentos que contengan grasa poli-insaturadas y proteínas (4)

El consumo excesivo de café produce el aumento de los lípidos séricos, se ha demostrado que poblaciones que consumen mucho café tienen mayor tendencia a la arteriosclerosis (16).

MATERIAL Y METODOS

1. La alfa asarona que se empleó en este estudio, fué aislada, purificada e identificada según la metodología reportada por Enríquez (7) y Mandoki (24).

2. Los animales que se utilizarán en este estudio provienen de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.

3. Los animales fueron mantenidos durante todo el experimento con una temperatura de 22 grados centígrados \pm 1°C, con una humedad relativa del 40%, ciclos de luz de 12 horas.

4. Las jaulas que se utilizaron fueron individuales, metálicas, con piso de rejilla, y charolas metálicas intercambiables, con cama de serrín de madera, comederos metálicos, bebederos de acrílico con chupón de metal. las jaulas se dispusieron en baterías.

5. El alimento que se empleó fué comercial "Alimento para pequeños roedores Purina", el alimento proporcionado a los animales, fué previamente molido en molino eléctrico. Se utilizaron diferentes lotes de alimento, durante la prueba, y este fué proporcionado por el propio bioterio de la escuela. El agua que les fué suministrada se filtró. No se administró ninguna dieta en especial.

El agua y el alimento, fueron proporcionados *ad libitum*.

6. Los animales que se utilizaron en esta prueba fueron ratas Wistar, recién destetadas (21 días), con un peso aproximado de 40 g, a las cuales se les dió una semana de aclimatación.

7. Se recibieron un total de 62 animales 28 animales machos y 34 animales hembras. Los animales fueron identificados con pintura (ácido pícrico disuelto en alcohol), siendo distribuidos aleatoriamente (45).

8. Cada grupo de animales fué dividido en dos lotes siendo un lote testigo y el otro tratado.

9. El lote testigo recibió el alimento comercial molido exento de fármaco, y el lote tratado recibió el alimento comercial molido y el fármaco alfa asarona en dosis de 50 mg/Kg/día (dosis máxima tolerable). El Cálculo de la ingestión de esta dosis está basado en la tabla de ajuste dietéticos (43) que establece el consumo diario de alimento por Kg de peso, dependiendo del sexo y de la edad del animal (Se utilizará esta forma de administración en lugar de sonda cuando esta segunda ocasiona problemas esofágicos, después de la administración prolongada, con en el caso del presente trabajo).

10. Al cabo de los 153 días los animales fueron sacrificados previa anestesia con cloroformo según el reglamento internacional de ética en experimentación biomédica).

11. Los animales fueron pesados previo al sacrificio.

12. Se realizó la necropsia; observando posibles lesiones en el animal en conjunto, así como en los órganos a estudiar, ellos fueron: hígado, riñón, estómago, ciego e intestino delgado (duodeno).

13. Los órganos extraídos fueron pesado, identificados y fijados en una solución de formaldehído al 10% durante 48 horas como mínimo a temperatura ambiente, para mantener sus características morfológicas y químicas intactas.

14. Se realizó un lavado con agua corriente durante 60 minutos para eliminar el exceso de fijador.

15. Obtención del corte: en esta etapa se realizó la técnica de inclusión en parafina, que consiste en primer lugar en una deshidratación de los órganos pasándolos por una serie de alcoholes de concentraciones crecientes:

- dos cambios de alcohol etílico al 50%
- dos cambios de alcohol etílico al 60%
- tres cambios de alcohol etílico al 70%
- dos cambios de alcohol etílico al 80%
- tres cambios de alcohol etílico al 96%
- dos cambios de alcohol etílico al 100%

Se dejaron los órganos alrededor de media hora en cada recipiente, después se utilizó un disolvente de la parafina, en este caso xilol, y se realizó un cambio de treinta minutos en una mezcla de alcohol absoluto-xilol y un cambio de xilol con un mínimo de treinta minutos o hasta que las piezas adquirieran un color ámbar o estuvieran transparentes.

16. Posteriormente se efectuó la inclusión en parafina preliminar y ulteriormente definitiva de cada uno de los órganos y los bloques fueron rotulados.

17. De cada bloque se obtuvieron cortes de 5 micrómetros de grosor, con un microtomo de inclusión en parafina. Los cortes se introdujeron en un baño de flotación que contenía agua caliente a 60°C con gelatina disuelta, para que se adhirieran al portaobjetos (se dejan secar los cortes al aire), después los cortes obtenidos (alrededor de 150 cortes por bloque), se metieron en canastillas a la estufa (60°C) por 24 horas para favorecer la adhesión al portaobjetos.

18. En los cortes obtenidos se aplicó la técnica de coloración de hematoxilina-eosina (2 y 10) que es topográfica.

OBSERVACION:

Como todos los cortes fueron incluidos en parafina, antes de realizar la técnica de coloración fué necesario efectuar la desparafinación y rehidratación, que consta de los siguientes pasos.

Técnica de Desparafinación y Rehidratación de Cortes Histológicos Obtenidos por Inclusión en Parafina (2 y 19)

- A) Xilol 5 minutos
- B) Alcohol etílico al 96% 5 minutos
- C) Alcohol etílico al 70 % 5 minutos
- D) Agua corriente 5 minutos

Técnica de Coloración de Hematoxilina-Eosina (10)

- A) Desparafinar e hidratar los cortes
- B) Teñir con Hematoxilina de Harris 3 minutos
- C) Lavar con agua corriente
- D) Diferenciar con alcohol ácido
- E) Lavar con agua corriente
- F) Virar con agua amoniacal
- G) Lavar con agua destilada 5 minutos
- H) Teñir con eosina acuosa 1 minuto
- I) Deshidratar con alcohol etílico al 96% 5 minutos
- J) Alcohol absoluto-xilol
- K) Aclarar con Xilol
- L) Montar en resina sintética

Resultados

Núcleos

azules o morados

Citoplasma y sustancia intercelular

rojo o naranja

RESULTADOS MACROSCOPICOS

De acuerdo con los resultados registrados en el Cuadro No. 2 para machos, con un peso promedio corporal de 346.9 g para testigos, y de 289.2 g. para los tratados y en el Cuadro No. 8 para hembras, con un peso promedio corporal de 254.4 g en los testigos y 216.9 g para las tratadas, según el análisis estadístico que aparecen en el apéndice, estas diferencias no se deben al azar.

En la determinación de los pesos de riñones, hígado, estómago, ciego e intestino delgado, tanto para los machos (Cuadros 3, 4, 5, 6, y 7) como para las hembras (Cuadros 9, 10, 11, 12 y 13), se observa que la administración de la alfa asarona no provoca aumentos en los pesos de los animales tratados.

RESULTADOS MICROSCOPICOS

Utilizando la técnica de coloración de hematoxilina-eosina se observó la estructura de los órganos mencionados anteriormente, cuyas descripciones aparecen a continuación.

- **A) Grupo testigo.** Descripción del riñón, hígado, estómago, ciego y duodeno de ratas Wistar sin tratamiento.
 1. Riñón: amiloidosis, congestión medular y cilindros proteicos (fotografía 1 y cuadro No. 14).
 2. Hígado: degeneración hidrópica y presencia de macrófagos (fotografía 4 y cuadro No. 15)
 3. Estómago: no presentó alteraciones (cuadro No. 16).
 4. Duodeno: pérdida de las glándulas de Lieberkühn (cuadro No. 17).
 5. Ciego: no se observaron alteraciones (cuadro No. 18).
- **B) Grupo tratado.** Descripción del riñón, hígado, estómago ciego y duodeno de ratas Wistar tratadas con alfa asarona (50 mg/Kg de peso)
 1. *Riñón:* degeneración hidrópica, cilindros proteicos, presencia de pigmento dorado en túbulos proximales (fotografía 2 cuadro No. 14).
 2. *Hígado:* degeneración hidrópica (cuadro No. 15).
 3. *Estómago:* cariólisis, acantosis (cuadro No. 16).
 4. *Duodeno:* presencia de eosinofilia (cuadro No. 17)
 5. *Ciego:* no se observaron alteraciones (cuadro No. 18).

CUADRO No. 2

Relación de pesos corporales de ratas Wistar machos testigos y tratados utilizado en el estudio.

No. de animal	Testigos machos	Tratados machos
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	255.0	225.9
2	267.5	234.3
3	317.5	256.0
4	334.0	258.2
5	340.0	263.7
6	343.3	275.0
7	354.0	283.3
8	355.0	295.0
9	361.5	309.9
10	368.0	310.5
11	376.0	320.8
12	382.0	321.0
13	398.0	343.0
14	405.0	353.2

$$\Sigma = 4856.6$$

$$\bar{X} = 1289.2$$

$$S = 10.45$$

$$\Sigma = 4048.8$$

$$\bar{X} = 346.9$$

$$S = 11.64$$

CUADRO No. 3

Efectos en los pesos de riñones producidos por alfa asarona en ratas Wistar machos

No. de animal	Testigos machos	Tratados machos
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	0.265	0.970
2	0.547	0.985
3	0.655	1.044
4	1.083	1.213
5	1.201	1.219
6	1.252	1.229
7	1.268	1.269
8	1.326	1.403
9	1.367	1.498
10	1.411	1.499
11	1.421	1.670
12	1.437	2.378
13	1.454	2.576
14	1.520	*

$$\Sigma = 16.216$$

$$\bar{X} = 1.158$$

$$S = 0.474$$

$$\Sigma = 18.958$$

$$\bar{X} = 1.354$$

$$S = 0.595$$

* = pérdida del órgano

CUADRO No. 4

Efectos en los pesos de los hígados producidos por la alfa asarona en ratas χ .istar macho.

No. de animal	Testigos machos	Tratados machos
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	8.431	7.212
2	10.481	7.860
3	11.103	8.123
4	11.961	8.258
5	12.049	8.802
6	12.249	9.697
7	12.264	10.630
8	12.490	10.878
9	14.271	11.321
10	14.275	11.893
11	15.044	13.329
12	15.517	14.665
13	15.734	15.468
14	18.097	*

$$\Sigma = 183.97$$

$$\bar{\chi} = 13.14$$

$$S = 2.41$$

$$\Sigma = 18138.4$$

$$\bar{\chi} = 10.65$$

$$S = 2.55$$

* = pérdida del órgano

CUADRO No. 5

Efectos en los pesos de estómagos producidos por la alfa asarona en ratas Wistar macho.

No. de animal	Testigos machos	Tratados machos
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	1.509	0.587
2	1.718	1.353
3	1.900	1.440
4	1.910	1.525
5	2.005	1.546
6	2.064	1.561
7	2.134	1.615
8	2.143	1.634
9	2.212	1.667
10	2.264	1.773
11	2.336	1.773
12	2.375	1.984
13	2.390	2.034
14	2.533	2.039

$$\Sigma = 29.493$$

$$\bar{X} = 2.11$$

$$S = 0.27$$

$$\Sigma = 22.531$$

$$\bar{X} = 1.61$$

$$S = 0.35$$

* = pérdida del órgano

CUADRO No. 6

Efectos de los pesos de los intestinos delgados producidos por la alfa asarona en ratas Wistar machos.

No. de animal	Testigos machos	Tratados machos
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	4.129	3.3325
2	5.218	4.507
3	7.547	5.070
4	8.102	5.676
5	8.603	6.512
6	8.966	7.332
7	9.034	7.421
8	9.374	7.463
9	9.391	8.229
10	11.669	8.617
11	13.307	9.605
12	14.089	11.211
13	14.249	12.101
14	*	14.404

$$\Sigma = 123.68$$

$$\bar{X} = 8.83$$

$$S = 2.69$$

$$\Sigma = 11.47$$

$$\bar{X} = 7.69$$

$$S = 2.35$$

* - pérdida del órgano

CUADRO No. 7

Efectos en los pesos de ciegos producidos por alfa asarona en ratas Wistar machos

No. de animal	Testigos machos	Tratados machos
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	1.164	1.071
2	1.311	1.102
3	1.324	1.104
4	1.413	1.120
5	1.418	1.134
6	1.583	1.225
7	1.614	1.344
8	1.655	1.350
9	1.800	1.536
10	1.833	1.981
11	1.965	2.014
12	2.035	2.235
13	2.477	*
14	9.178	*

$$\Sigma = 30.72$$

$$\bar{X} = 2.19$$

$$S = 1.56$$

$$\Sigma = 17.222$$

$$\bar{X} = 1.23$$

$$S = 0.45$$

* = pérdida del órgano

CUADRO No.8

Relación de pesos corporales de ratas Wistar hembras testigos y tratadas utilizadas en el estudio

No. de animal	Testigos hembras	Tratadas hembras
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	205.4	153.1
2	213.5	184.2
3	227.0	188.0
4	228.0	188.4
5.	231.5	205.0
6	236.8	214.0
7	241.5	218.2
8	248.0	221.4
9	252.5	221.9
10	253.0	234.7
11	260.0	235.3
12	261.0	236.2
13	261.5	300.0
14	271.7	***
15	273.0	***
16	273.0	***
17	276.0	***
18	281.0	***
19	332.0	***

 $\Sigma = 5094.41$ $\Sigma = 3036.42$

*** = no hubo ejemplares

 $\bar{X} = 268.13$ $\bar{X} = 216.88$

S = 31.99

S = 33.87

CUADRO NO. 9

Efectos en los pesos de hígados producidos por la alfa asarona en ratas Wistar hembras

No. de animal	Testigos hembras	Tratadas hembras
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	5.854	0.506
2	7.142	0.617
3	7.272	5.662
4	7.542	6.666
5	8.027	7.648
6	8.213	8.116
7	8.228	8.280
8	8.421	8.467
9	8.487	9.558
10	8.671	11.103
11	8.780	11.605
12	9.172	12.861
13	9.290	*
14	9.457	***
15	9.762	***
16	10.161	***
17	10.792	***
18	10.869	***
19	11.866	***

 $\Sigma = 167.94$ $\Sigma = 91.09$

* = pérdida del órgano

 $\bar{X} = 8.84$ $\bar{X} = 7.59$

*** = no hubo ejemplares

S = 1.41

S = 3.38

CUADRO No. 10

Efectos en los pesos de riñones producidos por alfa asarona en ratas Wistar hembras

No. de animal	Testigos hembras	Tratadas hembras
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	0.714	0.091
2	0.732	0.699
3	0.738	0.737
4	0.742	0.842
5	0.744	0.851
6	0.870	0.872
7	0.876	0.882
8	0.911	0.923
9	0.920	0.929
10	0.932	0.982
11	0.938	1.053
12	0.946	*
13	0.948	*
14	0.958	***
15	0.964	***
16	1.032	***
17	1.047	***
18	1.085	***
19	1.298	***

$$\Sigma = 17.395$$

$$\Sigma = 8.861$$

* = pérdida del órgano $\bar{X} = 1.915$

$\bar{X} = 11.241$

*** = no hubo ejemplares $S = 1.40$

$S = 1.41$

CUADRO No. 11

Efectos en los pesos de estómagos producidos por la alfa asarona en ratas Wistar hembras

No. de animal	Testigos hembras	Tratadas hembras
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	1.292	1.024
2	1.320	1.336
3	1.329	1.422
4	1.480	1.430
5	1.553	1.570
6	1.556	1.612
7	1.605	1.634
8	1.622	1.732
9	1.629	1.732
10	1.637	1.948
11	1.647	1.974
12	1.666	1.986
13	1.680	*
14	1.694	***
15	1.714	***
16	1.755	***
17	1.789	***
18	1.823	***
19	1.861	***

$\Sigma = 30.64$

$\Sigma = 319.40$

* = pérdida del órgano

$\bar{X} = 1.613$

$\bar{X} = 1.620$

*** = no hubo ejemplares

$S = 0.159$

$S = 0.275$

CUADRO No. 12

Efectos en los pesos de intestinos delgados producidos por alfa asarona en ratas Wistar hembras

No. de animal	Testigos hembras	Tratadas hembras
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	4.332	8.088
2	4.412	5.454
3	5.690	6.129
4	5.720	6.833
5	5.829	9.673
6	5.855	9.825
7	6.044	9.842
8	6.114	10.283
9	6.226	10.985
10	6.330	11.436
11	6.676	11.849
12	6.757	12.085
13	7.132	*
14	7.286	***
15	8.088	***
16	8.299	***
17	9.718	***
18	10.974	***
19	*	***

 $\Sigma = 121.57$ $\Sigma = 197.56$

* = pérdida del órgano

 $\bar{X} = 6.75$ $\bar{X} = 8.13$

*** = no hubo ejemplares

S = 1.63

S = 2.57

CUADRO No. 13

Efectos en los pesos de ciegos producidos por la alfa asarona en ratas Wistar hembras

No. de animal	Testigos hembras	Tratadas hembras
	(peso en gramos)	(peso en gramos)
1	0.889	0.805
2	0.927	1.024
3	0.989	1.034
4	1.028	1.127
5	1.051	1.184
6	1.055	1.254
7	1.089	1.409
8	1.181	1.547
9	1.231	1.566
10	1.298	1.575
11	1.316	1.701
12	1.317	1.989
13	1.340	*
14	1.371	***
15	1.372	***
16	1.408	***
17	1.747	***
18	1.784	***
19	1.986	***

$\Sigma = 24.38$

$\Sigma = 16.215$

* = pérdida del órgano

$\bar{X} = 1.28$

$\bar{X} = 11.351$

*** = no hubo ejemplares

$S = 0.30$

$S = 0.32$

CUADRO No. 14

Incidencia de las alteraciones histopatológicas en riñón causadas por la alfa asarona en ratas Wistar, 34 testigos y 28 tratadas.

Alteraciones	Testigos	Tratados
alteraciones en el epitelio de los túbulos	0	2
amiloidosis	2	0
cilindros proteicos	2	7
degeneración hialina	1	0
degeneración hidrópica	0	2
edema	1	0
necrosis de túbulos proximales	2	0
precipitados	1	0
pigmentos	3	4

0 = ausencia de lesiones

CUADRO No. 15

Incidencia de las alteraciones histopatológicas en hígado causada por alfa asarona en ratas Wistar 34 testigos y 28 tratadas

Alteraciones	Testigos	Tratadas
degeneración hialina	0	1
degeneración hidrópica	2	5
hepatocitos binucleados	0	2
infiltración grasa	0	1
presencia de macrófagos	1	2
mal conservados	4	13
sin alteraciones	4	0

0= ausencia de lesiones

CUADRO No. 16

Incidencia de las alteraciones histopatológicas en estómago causadas por alfa asarona en ratas Wistar 34 testigos y 28 tratadas

Alteraciones	Testigos	Tratadas
acantosis	0	1
alteraciones de las células principales	0	5
cariolisis	0	1
eosinofilia	0	2
pérdida de la estructura	0	8
alteraciones de las glándulas distales	0	1
pérdida de las glándulas principales	0	4
mal conservadas	2	11
sin alteraciones	21	4

0= ausencia de lesiones

CUADRO No. 17

Incidencia de las alteraciones histopatológicas en intestino delgado (duodeno) causadas por alfa asarona en ratas Wistar, 34 testigo y 28 tratadas.

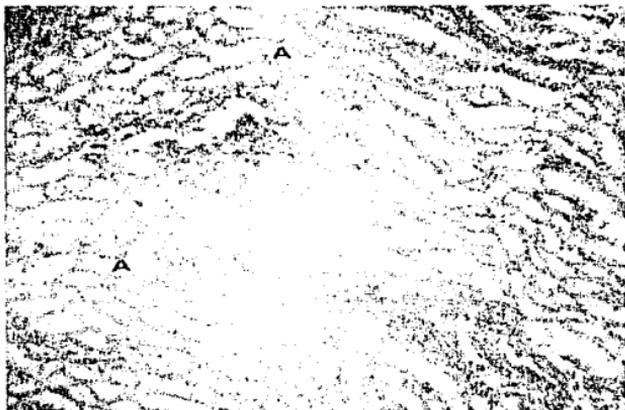
Alteraciones	Testigos	Tratadas
eosinofilia	0	2
pérdida de la glándulas de Lieberkühn	6	0
mal conservadas	7	14
sin alteraciones	26	7

0 = ausencia de lesiones

CUADRO No. 18

Incidencia de las alteraciones histopatológicas en ciegos causadas por alfa asarona en ratas Wistar, 34 testigos y 28 tratadas.

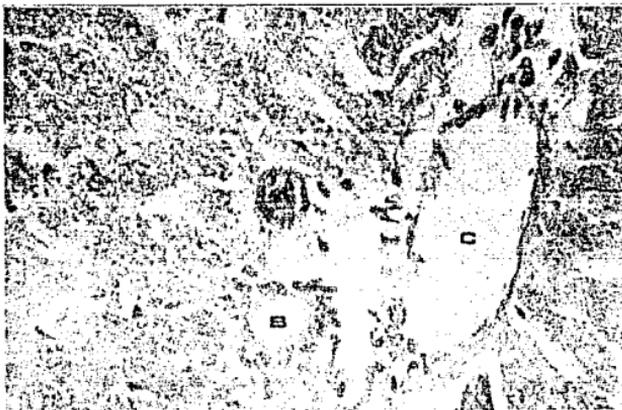
Alteraciones	Testigos	Tratados
sin alteraciones	34	28



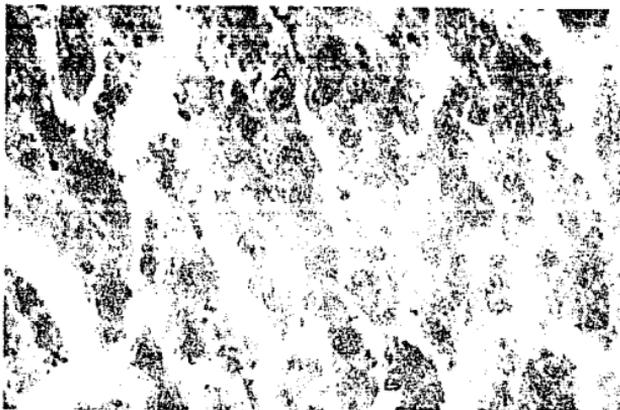
Fotografía No. 1 Corte transversal de la región medular del riñón se observa *congestión* (A). Grupo testigo 125X. Técnica *hematxilina-eosina*



Fotografía No. 2 Corte transversal de la región medular del riñón. Se observan *precipitados y cilindros en túbulos* (A) Grupo tratados. 300X. Técnica *hematxilina-eosina*



Fotografía No. 4 Corte transversal de hígado. Se observan los *hepatocitos* (A) y entre ellos *macrófagos con pigmento fagocitado* (B). Grupo tratados. 300X. Técnica *hematoxilina-eosina*



Fotografía No. 3 Corte transversal de hígado. Se observa la *triada hepática normal* (A) *arteriola* (B) *conductillo biliar* y (C) *vénula*, dentro del espacio de Kiernan o portahepático. Grupo testigo. 300X. Técnica *hematoxilina-eosina*

DISCUSION

Se empleó la Toxicología en este estudio para evaluar la aparición de los daños producidos en diferentes órganos y así prever efectos colaterales indeseables o inclusive la muerte en el ser humano.

La mayoría de los estudios toxicológicos se efectúan en más de una especie animal, porque la absorción, distribución, secreción y metabolismo pueden no ser iguales en el hombre e inclusive varían de un animal a otro.

La finalidad de este proyecto fué la de administrar a largo plazo el medicamento, ya que la mayoría de éstos no se suministran en una sola ocasión en el humano, por lo que es necesario observar lo que sucede con la administración prolongada en los animales.

Como se ve, a pesar de los estudios toxicológicos siempre aparecerán por el uso de un medicamento efectos indeseables en el hombre y en los animales, ya que influye la idiosincrasia del individuo y el número de animales que se estudian en el estudio toxicológico no es suficiente para detectar los efectos tóxicos, de baja frecuencia y aquéllos que se producen después del uso prolongado del medicamento. Esto nos hace recordar, que cada vez que un médico administra un medicamento a su paciente está efectuando un experimento y deberá de realizar minuciosas observaciones de los resultados de su experimento, ya que de ellas y de un reporte adecuado de los resultados es como se forma el conocimiento de la farmacología de un medicamento.

Por tal motivo se emplearon en este estudio dos lotes de animales, siendo 28 machos, de los cuales 14 formaron el grupo testigo y 14 el grupo tratado. Asimismo 34 hembras siendo 19 del grupo testigo y 13 del grupo tratado.

Inicialmente se pensó realizar la prueba de X^2 para analizar los pesos, y más tarde utilizamos el análisis de varianza, ya que este procedimiento nos permitió observar las diferencias entre las medias de los grupos, a un nivel de significancia del 5%. Siendo el valor crítico en nuestras condiciones de trabajo de 1.73 g, y el obtenido por nosotros para los machos fué de 15.6 g y para las hembras de 6.25 g y observando que ambos valores son superiores al crítico, podemos decir que la alfa asarona en dosis de 50 mg/Kg de peso sí produce alteraciones en los pesos corporales de nuestros animales ($p < 0.05$).

También inicialmente, se mencionó que se utilizaría la prueba de "t" de Student para la determinación de las lesiones microscópicas, sin embargo, posteriormente se optó por realizar la prueba de contingencia de 2×2 de Fisher con un nivel de significancia del 5%, siendo nuestro valor crítico de 3.84 y el obtenido fué de 5.39, y para evita errores empleamos la corrección de Yates, con un nivel de significancia del 5%, obteniendo así un valor de ($4.27 > p$).

Siendo así que también la alfa asarona en dosis de 50 mg/Kg de peso causa alteraciones en la morfología de los órganos estudiados.

Se piensa que algunos de los resultados que aparecen con valores discrepantes, se debieron a que el pesado de los órganos fué realizado por alrededor de 10 personas que trabajaban a la vez así se presume que esto provocó confusiones y errores en los datos. Por lo mismo, algunos órganos se extraviaron y no pudieron ser analizados. Por este motivo se sugiere que el estudio se haga por una sola persona.

CONCLUSIONES

- Como la DL_{50} suministra escasa información para evaluar la peligrosidad de compuestos, que se administran por largos periodos en los humanos. como se puede apreciar en este estudio, y en los que le antecedieron, las pruebas de toxicidad subaguda son necesarias entre otras, para predecir la toxicidad de un compuesto cuando este pretende ser utilizado con fines terapéuticos en el humano.
- La alfa asarona en dosis de 50 mg/Kg de peso produjo alteraciones en los pesos corporales tanto de machos como de hembras.
- La alfa asarona en dosis de 50 mg/Kg de peso provocó alteraciones en la morfología de los órganos estudiados con excepción hecha del ciego, por lo que se sugiere se estudie la morfología de estos órganos utilizando dosis menores del fármaco.
- Se recomienda emplear el alimento comercial que se suministra a los animales tanto testigos como tratados, en forma de pellets y no molido, ya que de esta manera es difícil saber la cantidad consumida, y además, se cambia la forma natural de ingestión, lo que repercute en las actividades de los sistemas enzimáticos de los diferentes tejidos.

LITERATURA CITADA

1. ACOSTA, AMPLEYRAL L. y BERNAL I.: Esplendor del México Antiguo. Centro de Investigaciones Antropológicas de México. México. 1959.
2. ARCINIEGA O. CARDONA P., CUENCA A., HERNANDEZ L., SANCHEZ A., VALENZUELA T. y VILLARREAL E.: Manual de Prácticas de Anatomía y organografía Microscópica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. México, 1971.
3. BARQUIN M. Historia de la Medicina (su problemática actual) Impresiones Modernas. México. 1971.
4. BONDANI G.A.: La Seguridad de un Nuevo Medicamento (estudios toxicológicos). Centro Mexicano de Desarrollo e Investigaciones Farmacéuticas. México. 1982.
5. BOWMAN W.C. and RAND M.D.: Textbook of Pharmacology 2th ed. Blackwell Scientific Publications. U.S.A. 1980.
6. CANNOR W.E.: Measures to Reduce the Serum Lipid Levels in Coronary Heart Disease. Med. Clin. 52:1249-1260. 1968.
7. CHAVEZ M.M., ENRIQUEZ R. and JAUREGUI F.: Propenyl benzenes from *Gutteria gaumeri*. Phytochemistry. england 19:2024-2025. 1980.
8. DANDIYA P.C. and MENON M.K.: Action of Asarone on behaviour Stress and Hyperpyrexia and Interaction with Central Stimulants. J. Pharmacol. Exp. Ther. 145:42-46. 1964
9. DOX I., MELLONI B.J. y EISNER G.M.: Diccionario Médico Ilustrado. Reverté. Barcelona. 1983.
10. ESTRADA F.E., PERALTA Z.O. y RIVAS M.P.: Manual de Técnicas Histológicas. AGT editor México. 1982.
11. FARMACOLOGIA I para Alumnos de la Carrera de químico Farmacéutico Industrial. Instituto Politécnico Nacional. México. 1972. (mimeo).
12. FOYE W.D.: Principles of Medical Chemistry. Lea & Febiger. p 462-531.
13. FURMAN R.J., ALNPOVICR. and HOWARD R.P.: Effects of Androgens and Estrogens on Serum Lipids and Concentration of Serum Lipoproteins in Normalipidemic and Hiperlipidemic States. Progr. Biochem. Pharmacol. 2: 215-249. 1967.
14. GARCIA PELAYO R.G.: Pequeño Larousse Ilustrado. Larousse. México. 1986.

15. GOMEZ, V.C. : Actividades Farmacológicas de la Asarona. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México. 1986.
16. HAZZARD W.H. and SPIEGER M.J. : Studies in the Mechanism of Increased Plasmaliglycerids Levels Induced by Oral Contraceptives. J. Medical New England. 280: 471-474.1964.
17. GUYTON A. : Tratado de Fisiología Médica. 5a. ed. Interamericana, México. 1977.
18. HOLUM J.R. : Elements of General and Biological Chemistry. John Wiley and Sons, New York. 1968.
19. JIMENEZ A.L. : Extracción, Identificación y efectos Teratógenos de 2,4,5 trimetoxi-propilbenceno (alfa asarona) en rata. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México. 1984.
20. KATZUN B.: Farmacología Básica y Clínica. El Manual Moderno, México. 1984.
21. KHITCHEVSKY D. : Drill's Pharmacology in Medicine. 4th ed. Mac Graw-Hill U.S.A. 1971.
22. KIMBER D.C. y GRAY C.E. : Manual de anatomía y Fisiología. La Prensa Médica Mexicana México. 1978.
23. MALLOY M.J., KANE J.P. y KATZUNE B. : Farmacología Básica y Clínica. El Manual Moderno, México. 1984.
24. MANDOKI J. y cols.: Aislamiento de la Asarona de la corteza de *Guatteria gaumeri* (Eklemy) y el estudio de la Acción Hipocolesterolemizante. IV Congreso Nacional de Farmacología. Mérida. Yucatán. 1980.
25. MARTINDALE. : The Pharmacopeia. 26th ed. The Pharmaceutical Press, 1972.
26. MARTINEZ M. : Catálogo de Nombre Vulgares y Científicos de Plantas Medicinales Mexicanas. Fondo de Cultura Económica, México. 1969.
27. MARTINEZ M. : Plantas Medicinales de México. 5a.ed. Botánica de México, México. 1969.
28. MENDEZ R.I., HAMIHISA G.D., MORENO A.L. y SOSA M.D. : El Protocolo en la Investigación. Trillas, México. 1984.
29. MENDIETA R.J. y DELAMO R.S. : Plantas medicinales del Estado de Yucatán. C.E.C.S.A. México. 1970.
30. MENON M.K. and DANDIYA P.C. : The Mecanism of Tranquilizing Action of Asarona from *Acorus calamus* Dinn. J. Pharmacol. 19: 170-175. 1967.
31. THE MERCK INDEX : 9th ed. U.S.A. p. 845. 1976.

32. PAGET G.E. and THOMSON R. : Standar Operation Procedures in Pathology. University Park Press. Baltimore. 1979.
33. RAMIREZ S,E. : Estudio Teratogénico de la Alfa Asarona en Ratón. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México. 1986.
34. ROBBINS S., ANGELL M.: Patología Básica Interamericana. México. 1985.
35. ROBBINS S., ANGELL M y JUMER V. : Patología Humana 3a. ed. Interamericana. México. 1985.
36. SANCHEZ R.J.,FUENTES J. y GONZALEZ V.J. : Efecto de la *Guatteria gaumeri* sobre la Glucosa y los Triglicéridos de Hámster. Acta Mexicana de ciencia y Tecnología, Instituto Politécnico Nacional. Vol: 4. 1980.
37. SANCHEZ R.J. y LERDO DE TEJADA A. Investigaciones Mexicanas Recientes sobre las Propiedades Medicinales del Yumel (*Guatteria gaumeri*). Medicina Tradicional. Vol. 3 No. 9. 1980.
38. SANCHEZ R.J. y RUIS V.L.: Acción del Extracto Alcohólico de *Guatteria gaumeri* sobre los Niveles de Colesterol Sanguíneo. Laboratorio de Propulsora de Homeopatía. México. 1975.
39. SCHULTES R.E. : Plantas Alucinógenas. Prensa Médica Mexicana. México. 1982.
40. SELECCIONES DE READER'S DIGEST. : Plantas Medicinales. Selecciones de Reader's Digest. México. 1985.
41. STRAYER L. : Bioquímica. Reverte. Venezuela. 1976.
42. SUBCHRONIC TOXICITY STUDIES en: Food and Cosmetics Toxicology. 16:83-92. 1978.
43. TILKIAN S.M., BOUDREAU M.C. y TILKIAN A.G. : Clinical Implications of Laboratory Tests. 2th ed. The C.V. Mosby Company. London. 1979.
44. TURNER and HERBORN : Screening Methods in Pharmacology. Academic Press. Vol: 2 p. 121.143. 1971.
45. WAYNE D. : Bioestadística. Limusa-Wiley. México. 1984.
46. WHITS W.L., ERICKSON M.M. and STEVENS S.C. : Chemistry for the Clinical Laboratory 4th ed. The C.V. Mosby Company. U.S.A. 1976.
47. WITIAK E.T. and DUAE M.D. : Cholesterol, Adrenocorticoids, and Sex Hormones : Principles of Medical Chemistry. Willian O. Foxe. Lea & Febiger. 1974.

48. YABIKU S.Y. : Oleo de Cáalamo, Aspectos Toxicológicos e seu Controle en Bebidas Acoolicas. Universidade de Sao Paulo, Brasil. 1980.

49. HOPKINS S.J. y KEELE C.A. : Fármacos más Usuales. Ediciones P.L.M. México. 1980.

APENDICE

ELABORACION DE UNA TABLA DE CONTINGENCIA DE 2X2 PARA LA PRUEBA EXACTA DE FISHER (28)

Poblaciones o categorías de una variable			
	C1	C2	Total
F1	a	b	F1
F2	c	d	F2
Total	C1	C2	Gran total

Regla de decisión:

1. Si la discrepancia obtenida como χ^2 calculada es mayor o igual al valor de χ^2 de tabla, se considera que sí hay diferencia estadísticamente significativa y se rechaza la hipótesis de nulidad (H_0).

$$p < 0.05 \text{ ó } p < 0.01$$

2. Si la discrepancia obtenida como χ^2 calculada es menor al valor de χ^2 de tablas, esto nos indica que hay poca discrepancia entre los valores observados y los valores esperados, se considera que no hay diferencia estadísticamente significativa y no se rechaza la hipótesis de nulidad.

$$p < 0.05$$

PRUEBA DE FISHER

Grupos de estudio	A	B	TOTAL
Tratados	19	13	32
Testigos	9	21	30
Totales	28	34	63

$$x^2 = \frac{n(ad-bc)}{(a+c)(b+d)(a+b)(c+d)}$$

$$x^2 = \frac{62 [(19 \cdot 21) - (13 \cdot 9)]^2}{(28)(34)(32)(30)}$$

$$x^2 = \frac{62 [(399 - 117)]^2}{913920}$$

$$x^2 = 5.3949$$

$$x^2 \text{ tabla } 0.05 = 3.84$$

$$x^2 \text{ calculada} = 5.3949$$

Si x^2 calculada es mayor que x^2 de tablas hay discrepancia entre los valores observados y los valores esperados. Hay diferencia estadísticamente significativa para el nivel de 0.05, por lo tanto se rechaza la hipótesis de nulidad.

Conclusión:

La alfa asarona sí altera la morfología de los órganos estudiados

CORRECCION DE YATES

Grupos de Estudi	A	B	Total
Tratados	19	13	32
Testigos	9	21	30
Totales	28	34	62

$$x^2 \text{ corregida} = \frac{n[(ad-bc) - 5n] ^2}{(a+c)(b+d)(a+b)(c+d)}$$

$$x^2 \text{ corregida} = \frac{62 [(19 \cdot 21 - 9 \cdot 13) - 5(62)] ^2}{(19+9)(13+21)(19+13)(9+21)}$$

$$x^2 \text{ corregida} = \frac{62 [(399-117) - 310] ^2}{(28)(34)(32)(30)}$$

$$x^2 \text{ corregida} = \frac{62 (282-310) ^2}{913920}$$

$$x^2 \text{ corregida} = 62(784)/913920$$

$$x^2 \text{ corregida} = 48608/913920 = 0.053$$

$$x^2 \text{ corregida} = 0.053$$

calculada

$$x^2 \text{ tablas} = 3.84$$

0.05

Si la x^2 calculada es menor al valor de x^2 de tablas, hay poca discrepancia entre los valores observados y los esperados, no hay diferencia estadísticamente significativa y no se rechaza la hipótesis de nulidad (H_0).

PRUEBA DE "t" APAREADA PARA LA COMPARACION
DE DOS MUESTRAS RELACIONADAS (26)

PAREJA	VALOR DE X	VALOR DE Y	DIFERENCIA $X - Y = D$	$(D - \bar{D})$	$(D - \bar{D})^2$
1	X1	Y1	$X1 - Y1 = D1$	$D1 - \bar{D}$	$(D1 - \bar{D})^2$
2	X2	Y2	$X2 - Y2 = D2$	$D2 - \bar{D}$	$(D2 - \bar{D})^2$
.
.
.
N	X_n	Y_n	$X_n - Y_n = D_n$	$D_n - \bar{D}$	$(D_n - \bar{D})^2$
SIGMA	ΣX_n	ΣY_n	$\Sigma X_n - \Sigma Y_n = \Sigma D_n$	$\Sigma D_n - \bar{D}$	$(\Sigma D_n - \bar{D})^2$

Número de pares
Promedio de las diferencias
Error estándar:
Fórmula

N
D
Sd/RN
Tcal = D/E.E.

Regla de Decisión:

1. Si la Tcal es mayor o igual a la Ttab, se considera que sí hay diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de muestras en el nivel de significancia escogida, y se rechaza la hipótesis de nulidad (H_0).
2. Si la Tcal es menor que la Ttab, se considera que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de muestras, y no se rechaza la hipótesis de nulidad (H_0).

PRUEBA DE "t" APAREADA PARA COMPARAR DOS MUESTRAS
RELACIONADAS EN RATAS WISTAR MACHOS.

No. de animal	Valor de X	Valor de Y	X-Y=D	(D-D)	(D-D) ²
1	255	225	29.1	-28.6	818
2	267.5	234.3	33.2	-24.5	600.25
3	317.5	256	61.5	-3.8	14.44
4	334	258.2	75.8	18.1	327.61
5	340	263.7	76.3	18.6	346
6	343	275	68	10.3	106.1
7	354	283.3	70.7	13	169
8	355	295	60	2.3	5.3
9	351.5	309.9	51.6	-5.1	37.21
10	368	310.5	57.5	-0.2	0.04
11	376	320.8	55.2	-2.5	6.25
12	382.6	321	61.6	3.9	15.21
13	298	343	55	-2.7	7.3
14	405	353.2	51.8	-5.9	34.81
sigma	4857.10	4049.8	807.3	7.1	2487.5
x	346.9	289.3	57.7		

$$s^2d = 2487.5 / 14 - 1$$

$$s^2d = 191.35$$

$$sd = \sqrt{191.35} = 13.83$$

$$E.E. = 13.83 / \sqrt{14} = 13.83 / 3.742 = 3.70$$

$$T_{cal.} = 57.7 / 3.70 = 15.6$$

$$T_{.95} = 1.7709$$

$$H_0 = 1.7709 \text{ menor } t$$

$$H_1 = t \text{ mayor } 1.7709$$

Conclusión: Sí hay diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de las muestras, y se rechaza la hipótesis de nulidad.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

PRUEBA DE "t" APAREADA PARA COMPARAR DOS MUESTRAS
RELACIONADAS EN RATAS WISTAR HEMBRAS.

No. de animal	Valor de X	Valor de Y	X-Y=D	(D-D)	(D-D) ²
1	205.40	153.10	52.30	27.70	767.30
2	213.50	184.20	29.30	4.70	22.10
3	227.00	188.00	39.00	14.40	207.40
4	228.00	188.40	39.60	15.00	225.00
5	231.50	205.00	26.50	1.90	3.61
6	236.80	214.00	22.80	-1.80	3.24
7	241.50	218.20	23.30	-1.30	1.69
8	248.00	221.40	26.60	2.00	4.00
9	252.50	221.90	30.60	6.00	36.00
10	253.00	234.70	18.30	-6.30	39.70
11	260.00	235.30	24.70	-0.10	0.01
12	261.00	236.20	24.80	0.20	0.04
13	261.50	300.00	-38.50	-38.10	3981.60
14	271.70	***	***	***	***
15	273.00	***	***	***	***
16	273.00	***	***	***	***
17	276.00	***	***	***	***
18	281.00	***	***	***	***
19	332.00	***	***	***	***
SIGMA	4826.40	2801.40	319.30	-3.70	5291.70
X̄	254.02	215.50	24.60		

$$s^2_d = 5291.7/19-1$$

$$s^2_d = 293.98$$

$$s_d = R \ 293.98 = 17.147/4.359$$

$$E.E. = 17.146/ R \ 14 = 17.146/4.359$$

$$E.E. = 3.934$$

$$T_{cal} = 24.6/3.934 = 6.253$$

$$T_{.95} = 1.7341$$

Ho = 1.7341 menor t

H1 = t mayor 1.7341

Conclusión: sí hay diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de las muestras y se rechaza la hipótesis de nulidad.

REPORTE PATOLOGICO

PROYECTO No.		ANIMAL	SEXO	FECHA DE AUTOPSIA			
GRUPO		IDENTIFICACION		MUERTE < 1 Hr.		1-5 Hrs.	> 5 Hrs.
ESPECIE				MUERTE I.		MUERTE M.	MUERTE T.
DOSIS				Na		PENTOBARBITAL	
PERIODO DE PRUEBA (MESES)				PESO		LABORATORIO DE TOXICOLOGIA	
TECNICA (SIG)							
HISTORIA CLINICA							
LESIONES MACROSCOPICAS							
LESIONES MICROSCOPICAS							
PROSECTOR _____							
PESO DE LOS ORGANOS							
ORGANO	PESO (g)	ORGANO	PESO (g)	ORGANO	PESO (g)	ORGANO	PESO (g)
Adrenal		Epididimo		Tiroides		Colon	
I		I		I		Ciego	
Pulm		Testiculo		Pulmones		Timo	
I		I		Corazon		Prostata	
Ovario		Hipofisis		Bazo		Utero	
I		Cerebro		Pancreas			
Higado		Estomago		I. delgado			
PESADO		FECHA		PESADO		FECHA	
SUPERVISOR				FECHA			

(Fuente: PAQET G.E. and THOMSON R.: Standard operating procedures in pathology
University Park Press. Baltimore. 1979)