

15
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO PRELIMINAR PARA DETERMINAR EL
POSIBLE EFECTO ABORTIVO DE A. littoralis y
A. grandiflora, EN RATAS DE LABORATORIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A N :
RUTH BUSTAMANTE GARCIA
ANA LUCIA SALAS GUADARRAMA



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

263989



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

JURADO ASIGNADO :

PRESIDENTE: Prof. SILVA LEAL GRISELDA.

VOCAL: Prof. PAEZ AGUIRRE ROSA MARIA ERENDIRA.

SECRETARIO: Prof. VAZQUEZ ALVAREZ ANA MARIA.

1er. SUPLENTE: Prof. RION ARRIOLA RAFAEL.

2do. SUPLENTE: Prof. PONCE MONTER HECTOR ANTONIO.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Bioterio.
Facultad de Química, U.N.A.M.

ASESOR:



M.en C. ANA MARIA VAZQUEZ ALVAREZ.

ASESOR TÉCNICO:



M.V.Z. ATONATIU E. GÓMEZ MARTÍNEZ.

SUSTENTANTES:



RUTH BUSTAMANTE GARCIA



ANA LUCIA SALAS GUADARRAMA

AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental de esta tesis fue realizado en el Bioterio de la Facultad de Química en colaboración con la Sección de Farmacología del Departamento de Farmacia.

Al M. en C. Alfonso Lira Rocha por proporcionar el material vegetal utilizados para la elaboración de los extractos.

Al Biólogo. Luciano Hernández Gómez por su apoyo desinteresado en la elaboración de los extractos vegetales que se utilizaron.

Al M.V.Z. José Ramírez Lezama por su valiosa ayuda y colaboración en el estudio histopatológico realizado en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Al Q.F.B. Alejandro Ortíz Osornio, por su apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

A la Dra. Elia B. Naranjo Rodríguez, por su apoyo, comprensión y ayuda prestada así como su valiosa aportación durante el proceso y culminación de este trabajo.

Al M.V.Z. Atonatiu E. Gómez Martínez, por soportarnos durante todo este tiempo y tenernos paciencia, por ayudarnos, motivarnos, asesorarnos y comprendernos, así como por todos los momentos gratos que compartimos. ¡¡¡¡¡Gracias por su amistad!!!!

A la M en C. Ana María Vázquez Alvarez por asesorarnos con paciencia y dedicación brindándonos su valioso tiempo durante la realización de este trabajo.

A todos nuestros maestros por sus enseñanzas.

Al honorable jurado con todo respeto.

A todas aquellas personas que estuvieron siempre dispuestas a ayudarnos y que nos brindaron apoyo y comprensión para la culminación de esta tesis.

A la UNAM por darnos la oportunidad de pertenecer a la Máxima Casa de Estudios, que es para nosotros todo un privilegio y un honor.

DEDICATORIAS

A mis padres con cariño:

*Narciso E. Bustamante G y Francisca García B.
con todo respeto y cariño, por brindarme su apoyo
durante todo este tiempo, por quererme y darme un
ejemplo de perseverancia y ayudarme a cumplir
todas mis metas.*

*A mis hermanos, en especial a Marco Antonio, por
escucharme siempre y ayudarme cuando lo he
necesitado, sigue adelante y no desista en cumplir
todos sus objetivos.*

*A mis amigas de toda la vida por apoyarme
y brindarme su amistad: Laura Romero E.
Edith Canive O.*

*A mis amigos del C.C.H. que siempre recuerdo con cariño:
Abril, Yazmín, Marcos y Jhony.*

A mis amigos de primer semestre .

*A mis amigos con los que pase gratos
momentos y conviví en toda la carrera de
la generación 91, 92 y 93.*

A mis amigas inseparables: Alinne, Lúlu y Lucy.

*A un amigo muy especial : Alez, gracias
por tu amistad incondicional*

*A Lucy con cariño por su amistad, apoyo
incondicional, y por haber tenido
confianza en mí para finalizar este
proyecto.*

*A los trabajadores del Bioterio por su ayuda durante
todo este tiempo en el que labore ahí.*

*A mis amigos del Ingles que me han apoyado
y dado ánimos para seguir adelante: Norma,
Yesenia, Issa y Gaby.*

A mis amigos del Francés, que a pesar del poco tiempo en que hemos convivido les he llegado a tomar gran cariño y aprecio: Tania, Fernando, Araceli, Karla, Felipe, Felipe y a Ceci.

Y a todos aquellos que quiero y que siempre han confiado en mí: gracias.

Πορ ενσε)αρμε ηα αφρονταρ λασ αδπερσιδαδεσ χον χαρι)ο ψ τερνυρα
πορ σερ μι γυζ α εν μομεντοσ διφζ χιλεσ δε μι πιδα
πορ ενσε)αρμε αμαρ ψ χομπαρτιρ χονμιγο υν σε)ο
πορ ενσε)αρμε α δεσχυβριρ λα βελλεζα δε λα πιδα
ψ ηαβερ φορμαδο υνα παρτε δε μι.
Γραχιασ.
χον τοδο μι αμορ, φυλιο δε 1998.

RUTH

A mi mamá por inculcarme su amor a la vida, por apoyarme siempre, por su cariño y por todo aquello que a veces no es fácil expresar tan sólo en una hoja de papel.

A mi papá por su ejemplo de perseverancia, por la formación y apoyo incondicional que siempre me ha dado.

A mis hermanos: Ale, Vicky e Irma por su cariño y ánimos para seguir adelante y llegar hasta aquí.

A la memoria de mis abuelitos y de Ofelia.

A Ruth por su amistad, cariño, por todo lo que hemos compartido juntas; por su apoyo y gran sentido de compañerismo sin el cual no hubiéramos llegado a este momento.

A Marcos, Mago, Veva y Lety, porque sé que siempre cuento con su amistad.

A Alez, Alinne y Lúlu, por su amistad.

A mis compañeros de Carrera: Oscar, Edith Javier, Julia, Eugenia, Joel, Tere, Pedro y Rafa.

A los trabajadores del Bioterio: los señores Rosalío, Lázaro y Gulberto, a la Sra. Mercedes y a Mary por haber convivido gran parte de mi estancia en la Facultad.

LUCY

Í N D I C E

| | pag. |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CAPITULO I. GENERALIDADES | |
| 1.0 | Introducción 5 |
| 1.1 | Características generales de la Familia <i>Aristolochiaceae</i> 7 |
| 1.2 | Características químicas de la Familia <i>Aristolochiaceae</i> 10 |
| 1.3 | Características generales de <i>A. littoralis</i> y <i>A. grandiflora</i> 11 |
| 1.3.1 | Usos medicinales de las especies <i>A. littoralis</i> y <i>A. grandiflora</i> 12 |
| 1.4 | Localización geográfica de <i>A. littoralis</i> y <i>A. grandiflora</i> 13 |
| 1.5 | Principales principios activos de las especies <i>A. littoralis</i> y <i>A. grandiflora</i> 14 |
| 1.6 | Generalidades del aborto 15 |
| 1.6.1 | Definición de aborto 15 |
| 1.6.2 | Clasificación de las nominaciones de aborto 16 |
| 1.6.3 | Mecanismo del aborto 17 |
| 1.6.4 | Métodos abortivos 18 |
| 1.6.5 | Complicaciones causadas por el aborto 26 |
| 1.7 | Fisiología reproductiva de la rata 27 |
| 1.7.1 | Ciclo estral de la rata 28 |
| 1.7.2 | Fases del ciclo estral de la rata 30 |
| CAPITULO II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. | |
| 2.1 | Planteamiento del problema 31 |
| CAPITULO III. OBJETIVOS E HIPOTESIS. | |
| 3.1 | Objetivos 32 |
| 3.2 | Hipótesis 32 |
| CAPITULO IV. MATERIAL Y METODOS. | |
| 4.1 | Material, reactivos y equipo 33 |
| 4.2 | Metodología 35 |
| 4.2.1 | Experimento A 35 |
| 4.2.2 | Diseño experimental 37 |
| 4.2.3 | Experimento B 38 |
| 4.2.4 | Diseño experimental 40 |

CAPITULO V. RESULTADOS

| | | |
|-------|-----------------------------------------------------------------|----|
| 5.1 | Resultados | 41 |
| 5.2 | Experimento A | 42 |
| 5.3 | Experimento B | 43 |
| 5.3.1 | Resultados de la citología vaginal en ratas | 43 |
| 5.3.2 | Peso promedio de los grupos tratados a diferentes tiempos | 44 |
| 5.3.3 | Peso promedio de úteros de rata de los grupos tratados | 46 |
| 5.3.4 | Descripción macroscópica de los úteros de rata | 47 |
| 5.3.5 | Estudio histopatológico de úteros de rata | 48 |
| 5.3.6 | Fotografías de cortes histológicos de útero de rata | 49 |

CAPITULO VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

| | | |
|-----|-------------------------------|----|
| 6.1 | Discusión de resultados | 53 |
|-----|-------------------------------|----|

CAPITULO VII. CONCLUSIONES.

| | | |
|-----|--------------------|----|
| 7.1 | Conclusiones | 57 |
|-----|--------------------|----|

CAPITULO VIII. APÉNDICE

| | | |
|-----|----------------|----|
| 8.1 | Apéndice | 58 |
|-----|----------------|----|

CAPÍTULO IX. RESUMEN.

| | | |
|-----|---------------|----|
| 9.1 | Resumen | 60 |
|-----|---------------|----|

CAPÍTULO X. BIBLIOGRAFÍA.

| | | |
|------|--------------------|----|
| 10.1 | Bibliografía | 61 |
|------|--------------------|----|

1.0. Introducción.

La familia de plantas *Aristolochiaceae*, está formada por más de 400 especies distribuidas en tres géneros, *Azarum*, *Bragantia* y *Aristolochia*. En México, el género *Aristolochia* está presente en la rica flora que vegeta en todo el país.

Esta familia vegetal ha formado parte del conocimiento herbolario de todo el mundo desde tiempos inmemorables y ha sido utilizada para controlar los mas variados padecimientos al parecer con buenos resultados; lo cuál nos lleva a realizar estudios farmacológicos sobre plantas de interés general (1,9).

En los últimos 10 años la medicina tradicional ha tomado gran importancia en nuestro país, aunque el estudio químico de las *Aristolochias* mexicanas ha sido muy limitado, hasta hoy, 39 han sido reportadas con uso en medicina tradicional, en el tratamiento de vaginitis, acariasis, disentería, cálculos biliares, tumores, abscesos, infecciones, etc. aunque no se tiene información de estudios farmacológicos realizados en plantas de este género *Aristolochiaceae* (1).

Dentro de este género se encuentra la *Aristolochia littoralis* y la *Aristolochia grandiflora*, estas dos especies son de interés debido a los usos reportados en la literatura Mexicana de medicina tradicional; entre los más importantes de la especie de *A. grandiflora* son: en la blenorragia, antidisintérico, contra vaginitis, emenagogo, antitumoral, para controlar flujo vaginal, astringente, estimulante, tónico, analgésico, carminativo, antipirético y como uterocinético; en lo que respecta a *A. littoralis*, su principal uso es como uterocinético y antiponsoñoso (9,12,16 y 17).

Es importante la realización de estudios para conocer si realmente estas especies presentan alguna actividad farmacológica para obtener resultados reproducibles que puedan ser analizados y poder aprovechar mejor sus propiedades.

El presente trabajo está encaminado a determinar los posibles efectos abortivos y/o actividad uterocinética de la *Aristolochia littoralis* y *Aistolochia grandiflora*.

Si existe efectos abortivos y/o actividad uterocinética podremos obtener información más amplia acerca del el uso de las *Aristolochias*.

1.1. Características Generales de la Familia *Aristolochiaceae* (1,9 y 12).

El género *Aristolochiae* forma parte de una familia de dicotiledóneas-mono clamideas que comprende a plantas viváceas herbáceas pubescentes o trepadoras con hojas alternas simples. Las flores perfectamente regulares tienen un sólo plano de simetría, no poseen pétalos y pueden tener un número variado de estambres. Las raíces son de sabor amargo y aromático, presentan células secretoras llenas de aceite esencial. El fruto es una cápsula con numerosas semillas. Su hábitat y forma de vida son en matorral, lianas o hierbas (en su mayor parte enredaderas). Florece de otoño a primavera, se cria en los cetos y entre la maleza, en lugares rocosos la mayoría de las veces. Las *Aristolochias* generalmente se encuentran en climas tropicales o sub-tropicales.

La parte más utilizada de las *Aristolochias* como medicina tradicional es la raíz y el tallo, aunque a ciencia cierta, no se conoce aún todos los principios activos de estas partes, pero uno de los que ha podido ser identificado es el ácido aristolóquico (36).

Las siguientes ilustraciones nos muestran algunas de las características morfológicas generales de la familia *Aristolochiaceae* (Figura No. 1 y 2) (15).

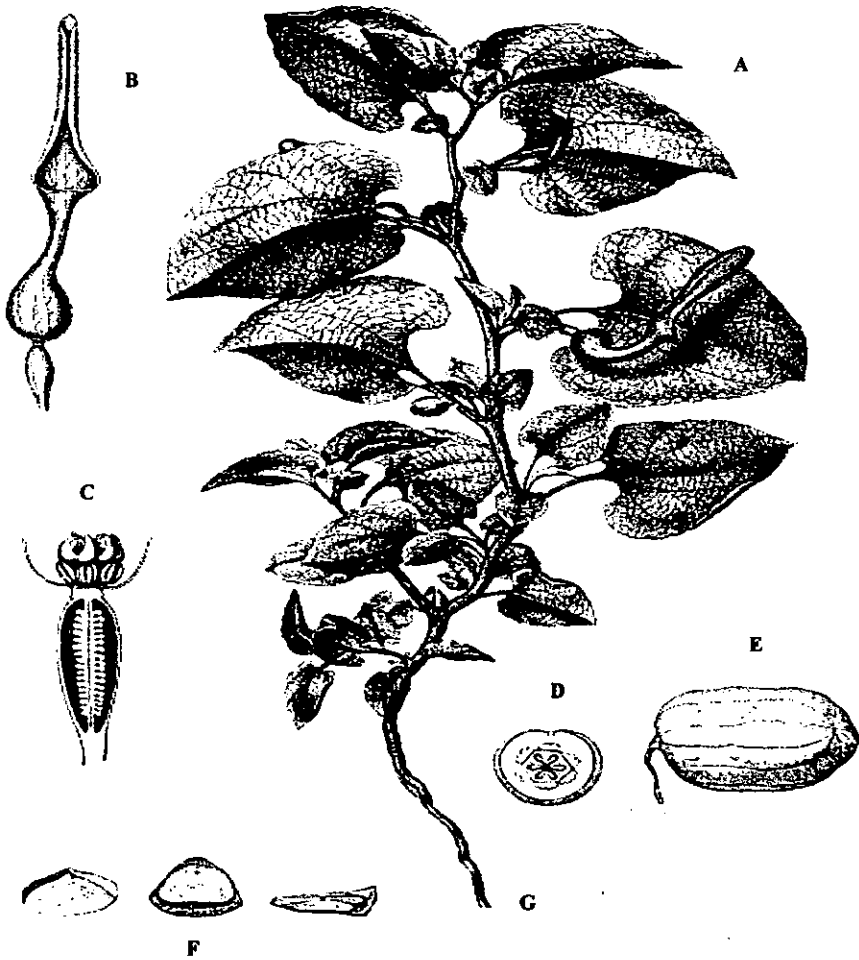
Características morfológicas de la familia *Aristolochiaceae* (15).

Figura No. 1. *Aristolochia* A: planta con flores; B: flor; C: Parte inferior de la flor (corte longitudinal del ovario); D: corte transversal del ovario; E: fruto; F: semillas (vista horizontal y vertical) y G: tallo (15).

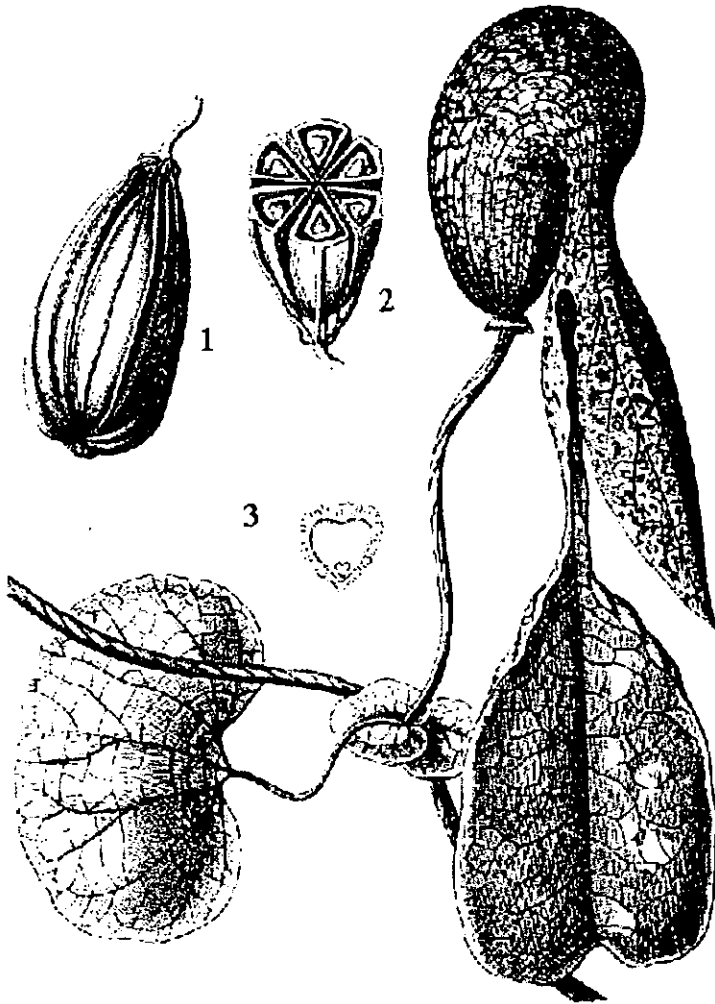
Flor y fruto de una *Aristolochia*

Figura No. 2. Flor y fruto de una *Aristolochia* (*A. Galeata*) 1.-Fruto; 2.-Corte transversal del fruto y 3.- Semilla del fruto (15).

1.2 Características químicas del género *Aristolochiae* (1,9)

Los metabolitos secundarios que forman las especies pertenecientes al género *Aristolochia* son de diversos tipos: compuestos terpénicos, esteroides, ácidos grasos y lignanos.

Desde el punto de vista de la actividad farmacológica los metabolitos secundarios más importantes son los alcaloides compuestos nitrofenantrénicos, como el ácido aristolóquico y sus derivados. El alcaloide comúnmente encontrado en estas plantas es la base cuaternaria de amonio llamada magnoflorina que pertenece al grupo de los alcaloides cuyo nombre genérico es el de aporfinas. Los ácidos aristolóquicos son sustancias del grupo de los fenantrenos de cuyo tipo se han identificado al menos 19 derivados como ácidos y otros tantos derivados lactámicos.

En nuestro país se han realizado estudios fitoquímicos sobre algunas especies de *Aristolochia* los compuestos que se han aislado de ellas se presentan en la tabla No. 1.

Tabla No. 1. Compuestos aislados de diferentes especies de la familia *Aristolochiaceae*. (1,9,12 y 56)

| ESPECIE | COMPUESTOS AISLADOS |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>A. asclepiadofolia</i> • <i>A. littoralis</i> | <ul style="list-style-type: none"> • β-sitosterol, alantoina, ac. aristolóquico. • β-sitosterol, ac. aristolóquico y bisbencilisoquinolina. |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>A. taliscana</i> • <i>A. mexicana</i> • <i>A. rotunda</i> | <ul style="list-style-type: none"> • taliscaina, dehidroisoeugenol. • sustancias antibacterianas. |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>A. máxima</i> • <i>A. longa</i> | <ul style="list-style-type: none"> • ác. aristolóquico 1, 2, aristolactama 1, β-sitosterol y L-asparagina. • ác. aristolóquico. • piranos, β-cariofileno, lanalool, acetato de bornilo, sesquiterpenoides tetracíclicos: calareno, maaliol, y 1-(10)-aristolen-2-ona, poliprenoles, ác. grasos y sus ésteres. |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>A. grandiflora</i> | <ul style="list-style-type: none"> • ác aristolóquico y β-sitosterol. |

1.3. Características generales de la *Aristolochia grandiflora* y *Aristolochia littoralis* en México (9,12,16,18,19,36 y 37).

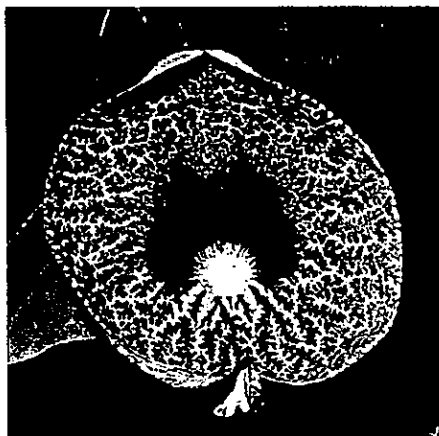
De las especies de *Aristolochias* presentes en nuestro país, sólo 39 están reportadas con usos en medicina tradicional.

La descripción botánica de la especie *A. grandiflora* es la siguiente: se conoce comunmente como guaco o flor de pato, se considera como hierba trepadora o bejuco, con flores blanco y rojo, centro café belloso, el fruto es de color verde y escaso (Figura No. 3)

En lo que respecta a la especie *A. littoralis* es un matorral alto y sublime, se utiliza como ornamenta; sus flores son moradas con blanco. (Figura No 4 y 5) (15 y 26).



Figura No.3 *Aristolochia grandiflora*. (15)

Figura No. 4. *A. littoralis*, vista de frente (15).Figura No. 5. *A. littoralis*, vista lateral (15).

1.3.1. Usos medicinales de las especies *A. littoralis* y *A. grandiflora*.

En la tabla No. 2, se muestran algunas de las propiedades medicinales que son atribuidas a estas dos especies.

Tabla No. 2. Propiedades medicinales de *A. littoralis* y *A. grandiflora* (1, 3, 9 y 16).

| <i>Aristolochia grandiflora</i> . (Flor de pato, patito, guaco, raíz de guaco, Wah-k'oh) | | <i>Aristolochia littoralis</i> . (patito) |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Analgésico • Acaricida • Alexitere • Antiblenorrágico • Antidisintérico • Antiespasmódico • Antipirético • Antirreumático • Antitumoral • Antitusígeno • Astringente • Carminativo. | <ul style="list-style-type: none"> • Disolución de cálculos en vesícula • Emenagogo • Estimulante • Eupéptico • En vaginitis • Tónico • Oftalmía purulenta • Control de flujos • Disolución de cálculos renales. • Catártico. | <ul style="list-style-type: none"> • Antiponosofo • Antipirético • Astringente • Antirreumático • Abortivo • Enfermedades gastrointestinales • Relajante uterino |

1.4. Localización geográfica de *A. grandiflora* y *A. littoralis*. (26)Tabla No. 3. Localización geográfica y descripción morfológica de *A. grandiflora* y *A. littoralis*.

| Género | Localización | Descripción | Observaciones |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Aristolochia grandiflora</i> Swartz | <ul style="list-style-type: none"> • Salto de Eyipantla Municipio de San Andrés Tuxtla Veracruz, México (18-23N, 095-13W). Altura 150 metros sobre el nivel del mar. • Cilapa, Municipio de Santiago Tuxtla Veracruz. • La Palma Sonteco mapa Veracruz. Región de los Tuxtlas. • Chocaman Córdoba Veracruz. • Hidalgotitlán Veracruz • Tescaltitlán Veracruz • Minatitlán Veracruz. • Cilapa Veracruz. • Catemaco Veracruz. • Tuxtepec, Oaxaca. Talapan Municipio de San Andrés. | <ul style="list-style-type: none"> • Bejuco de 4-5 metros abundante, con flores de color guinda. Nombre vulgar: Pato. • Hierba trepadora, flor blanco y rojo, centro café belloso. fruto verde, escasa. • Bejuco, amal trepadora. • Bejuco, amal trepadora • Bejuco, amal trepadora. • Bejuco, amal trepadora. • Bejuco con arbolitos de acahual, flor con reticulaciones de color rojo - morado. • Bejuco, amal trepadora. • Bejuco, amal trepadora. • Bejuco, amal trepadora. | <ul style="list-style-type: none"> • Acahual de selva alta, perennifolia, secundaria, presente en suelo arcilloso café oscuro ripanio. • Conocida también como <i>Aristolochia cordiflora</i>. • Se encuentra en suelo arcilloso. |
| <i>Aristolochia littoralis</i> Parodi | <ul style="list-style-type: none"> • Edo. de Sonora Elevación 600 m. Suroeste Alamos Rancho Acosta. • San Miguel Amatepec, Edo. de México. • Tehuantepec, Durango • Tamaulipas. Municipio de Victoria. • Tangajo. Municipio de Landa de Matamoros, Querétaro. | <ul style="list-style-type: none"> • Bejuco de flores moradas. • Flor blanca con morado abundante. | <ul style="list-style-type: none"> • Se cultiva en maceta por su flor. • Matorral alto. |

1.5. Principales principios activos presentes en *A. littoralis* y *A. grandiflora*.

A continuación se hace referencia al ácido aristolóquico y al β -sitosterol, principales principios activos encontrados en las especies de *A. littoralis* y *A. grandiflora* (2,12,13,14,20,34,40,46,48 y 57).

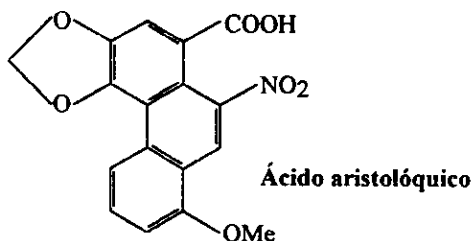


Figura No. 6. 8-metoxi-6-nitrofenantro (3,4-d)-1,3-dioxole-5-carboxilo.

El primero, el ácido aristolóquico, (Figura No. 6), soluble en compuestos orgánicos polares como cloroformo, etanol, acetona, anilina, álcalis y ligeramente soluble en agua; actúa a nivel de membranas de transporte, inhibe la implantación temprana del óvulo fecundado. Durante el primer trimestre causa hipermeabilidad de los capilares del endometrio, e incremento en el peso del útero y contenido de proteínas totales. Actúa en sitios específicos en el útero por el ácido fosfatasa, interfiere con los esteroides contenidos en el útero, induciendo a una implantación hostil del huevo.

Se ha encontrado con actividad abortiva del 100 % a dosis de 60 mg / kg de peso cuando es administrada a los 6 o 7 días de preñez y del 20 al 25 % a esa misma dosis a los 10 o 12 días respectivamente, administradas por vía oral en ratones hembra.

Interactúa con la fosfolipasa A_2 , tiene efectos en el tono uterino y protección de la membrana mitocondrial.

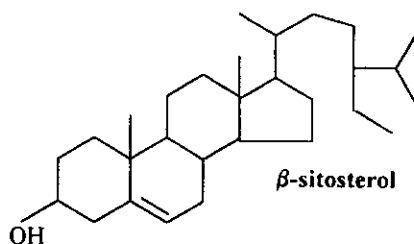


Figura No. 7. 3(β) - estigmastano-5-en-3-ol (53).

El β -sitosterol (Figura No. 7) es un esteroide del tipo estigmastano, es un compuesto insoluble en agua, presenta solubilidad en compuestos orgánicos de baja a mediana polaridad; es utilizado como hipocolesterolemia, ya que disminuye la absorción del colesterol a nivel del tracto gastrointestinal, tiene efectos en el tono uterino, puede ser utilizado como precursor de semisíntesis de hormonas (a nivel experimental), ya que presenta el anillo base (ciclopentanoperhidrofenantreno) característico de este tipo de sustancias.

A continuación se describirán los aspectos más relevantes sobre aborto, métodos frecuentemente utilizados para este fin y sus consecuencias.

1.6. Generalidades del aborto.

1.6.1. Definición de aborto.

Aborto: es un término compuesto de las partículas latinas ab y ortus, de donde literalmente significa privación del nacimiento u origen (50).

A lo largo de la historia, algunas mujeres han utilizado el aborto con el fin de terminar embarazos no deseados, Su situación legal en todo el mundo varía desde la prohibición completa hasta técnicas electivas de demanda, 2 / 3 de las mujeres del mundo disponen de la posibilidad de

realizar un aborto legal; aproximadamente, el 50 % de todas las mujeres pertenecen a países con importantes prohibiciones sobre el aborto. (49)

En la práctica el aborto se refiere a embarazos que terminan hasta antes de las 20 semanas de gestación o expulsión de un feto que pesa menos de 500 g, o como la pérdida prematura del contenido uterino como embrión o feto no viable. Las causas de aborto incluyen episodios agudos de hiperpirexia, nefritis, sífilis, insuficiencia tiroidea y producción inadecuada de progesterona, hipermotilidad uterina, traumatismos y empleo de drogas abortivas o tóxicas para el embrión o el feto. (7,10,29 y 50)

1.6.2. Clasificación de las nominaciones del aborto.

Hay diversas nominaciones de aborto. (25,39 y 50)

- A. Aborto espontáneo el que se produce sin señal de interferencia voluntaria o inadvertida. Se clasifican como amenaza, inevitable, incompleto o completo.
1. Amenaza de aborto, se define como cualquier hemorragia transvaginal o cólico uterino durante las primeras 20 semanas de gestación.
 2. Aborto inevitable, se manifiesta como dolor abdominal intolerable con hemorragia, contracciones uterinas y dilatación cervical progresiva, que ponen en peligro a la madre.
 3. Aborto incompleto, en el cual solo se expulsan parte de los productos de la concepción o hay rompimiento de membranas.
 4. Aborto completo, incluye la expulsión total del contenido uterino, la contracción del útero a su tamaño normal y el cierre del cuello.
 5. Aborto fallido, se presenta retención del feto en el útero durante 8 semanas o más después de su muerte.

6. Aborto habitual, cuando la mujer ha tenido 3 o más abortos espontáneos consecutivos.
 7. Aborto infectado o séptico, se produce cuando el contenido del útero se infecta antes, durante o después del aborto.
- B. Aborto provocado, o interrupción deliberada del embarazo intacto, son los efectuados por razones médicas o electivas.
- C. Abortos terapéuticos, cuando se practican para salvar la vida de la madre, o por otros motivos, que varían según los países y suelen estar definido legalmente.

I 6.3. Mecanismo del aborto (7,25,29, y 33).

La contracción uterina efectúa casi todo el trabajo del aborto, excepto la expulsión del huevo suelto cuando está en la vagina, que corre a cargo de los músculos abdominales. Las vías óseas nunca entran en consideración.

El proceso abortivo puede seguir varios caminos durante el tercer y cuarto mes.

En primer lugar, puede expulsarse el feto en un saco intacto unido a la placenta. En segundo lugar, las membranas pueden romperse y se expulsa el feto. El cuello puede cerrarse y quedar retenida la placenta. El útero más tarde hace un segundo esfuerzo para expeler las secundinas. Durante el intervalo, a consecuencia de una separación parcial de la placenta, puede producirse hemorragia profusa. En tercer lugar, la decidua capsular y el corion pueden romperse, permitiendo que se escape el feto localizado en el saco amniótico. El útero todavía contiene la placenta y el corion. En esta etapa puede haber hemorragia por la separación de la placenta.

En el aborto, las contracciones uterinas actúan igual que en el parto, la dilatación del cuello se produce de la misma manera. Después de vaciar su contenido, el útero se contrae y empieza la involución. Los dolores tardíos se presentan a veces; incluso puede haber producción de leche.

En el término aborto provocado incluye todas las terminaciones voluntarias del embarazo antes que el feto ha alcanzado la viabilidad. Esto incluye los abortos terapéuticos efectuados con indicaciones médicas o psiquiátricas netas, así como los abortos legales solicitados.

Es difícil adentrarse en el tema de interferencia de embarazo antes de la viabilidad por consideraciones legales, emocionales, éticas y teológicas excesivas.

El aborto provocado, incluso en las mejores circunstancias, no está exento de peligro, y no debe efectuarse a la ligera. La frecuencia de complicaciones graves es del 1 al 19 % según la técnica utilizada.

Después del segundo trimestre se dispone de varios procedimientos alternativos para conseguir el aborto.

1.6.4. Métodos abortivos frecuentes (6,10,32 y 50).

Las diversas técnicas para realizar un aborto que se emplean con mayor frecuencia son las siguientes:

I. Quirúrgicas.

A. Dilatación cervical y evacuación instrumental del contenido uterino.

1. Legrado.

II. Médicas.

A. Oxitocina I.V.

B. Líquidos intraamnióticos.

1. Solución salina al 20 %

2. Urea al 30 %

C. Prostaglandinas E2, F2 a y derivados.

1. Inyección intraamniótica.
2. Inyección extraovular.
3. Inserciones vaginales.
4. Inyección parenteral.
5. Ingestión oral.
6. Misoprostol
7. RU-486

D. Combinaciones diversas de las anteriores. (24 y 49)

Las técnicas de aborto varían con la edad gestacional. La **evacuación instrumental** se utiliza en el 96 % de los abortos. En embarazos menores de 12 semanas el legrado es virtualmente el único procedimiento empleado. El **legrado por aspiración** de la 4ª a la 6ª semana de gestación, requiere poca o nula dilatación cervical, el instrumento utilizado con mayor frecuencia consiste en una cánula pequeña y flexible, de 4 a 6 mm de diámetro; también se emplean sondas de plástico de 6 mm, así como pinzas de biopsia y aspiración endometrial metálicas. La cavidad uterina se legra suavemente y en toda su superficie. La interrupción por éstos métodos ocurre generalmente durante las primeras semanas de gestación.

En los embarazos mayores de 12 semanas, el método empleado con mayor frecuencia es la **dilatación y evacuación**. En esta técnica, se dilata el cuello uterino, habitualmente se utilizan pinzas para extraer el feto y se utiliza una cánula de succión de 14-16 mm para aspirar el líquido amniótico, la placenta y los restos fetales. Este método requiere mayor habilidad que el legrado y la aspiración.

Soluciones Hiperosmóticas Intraamnióticas (29,32,35 y 39).

Para realizar el aborto durante el segundo trimestre, se ha inyectado una solución de dextrosa al 50 %, una solución salina al 20-25 % o urea al 30-40 % en el saco amniótico para estimular las concentraciones uterinas y la dilatación cervical.

El mecanismo de acción de los productos hiperosmolares no está muy claro, cuando son colocados en el saco amniótico muy a menudo el feto muere, aunque ello no explica su acción ni que la dilatación miometrial por un volumen intrauterino sea un factor importante (33).

El aborto puede iniciarse por **inducción médica** de las contracciones uterinas, especialmente en el 2º trimestre de embarazo. En EE.UU, la técnica más frecuente consiste en la perfusión de una solución salina hipertónica por medio de una aguja o catéter pequeño a través de la pared abdominal y el útero, en el saco amniótico. Comúnmente se extraen de 50 a 200 ml de líquido amniótico y se inyectan cuidadosamente 200 ml de suero salino hipertónico (al 20%) en el saco. El parto suele iniciarse a las 24 hr y el feto y la placenta salen a las 36 hrs después de la perfusión. Las complicaciones incluyen hipernatremia, cuaguloplastias, hemorragias, infecciones, lesiones cervicales e intoxicación acuosa (49,50 y 54).

Las **prostaglandinas** son hormonas locales, abortivos promisorios, sus usos y mecanismos de acción todavía se están investigando (29,49 y 54).

La síntesis de prostaglandinas ocurre rápidamente cuando el precursor inmediato, usualmente el ácido araquidónico es liberado de su combinación con otros lípidos.

Las prostaglandinas actúan en concentraciones muy bajas pero son destruidas rápidamente.

Para lograr un efecto terapéutico se deben aplicar grandes cantidades localmente.

Sobre músculo liso la prostaglandina E (PGE) y la PGF inician o hacen aumentar las contracciones uterinas durante todo el embarazo y no solo al término como en caso de la oxitocina y los alcaloides del cornezuelo de centeno, también aumenta el peristaltismo intestinal (Figura No. 8)(24 y 39).

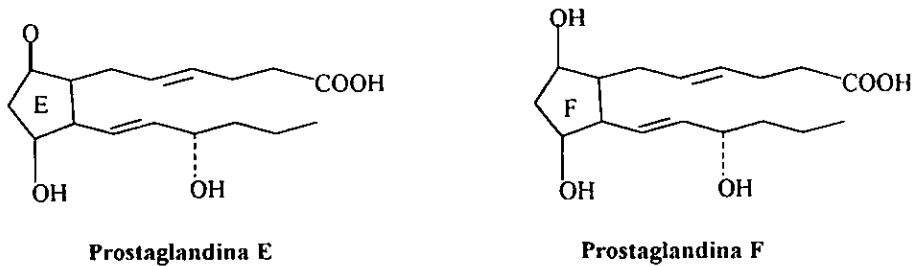


Figura No. 8. Las prostaglandinas son ácidos grasos insaturados de 20 carbonos, que contienen un anillo ciclopentano (53).

Las prostaglandinas E₂, F_{2a} y sus derivados están siendo ampliamente investigados como abortivos. Se administran por vía oral, parenteral, dentro del saco amniótico, extraovularmente y como supositorio colocado al lado del cérvix. Se utilizan solas, con oxitocina intravenosa y con soluciones salinas hipotónicas inyectadas dentro del saco amniótico.

Algunos problemas principales que se han desarrollado por su utilización incluyen:

1. Efectos sistémicos adversos molestos.
2. Retraso en la evacuación de los productos de la concepción.
3. Evacuación incompleta de dichos productos.
4. Hemorragia.
5. Infecciones.
6. Laceración cervical y formación de fistulas.

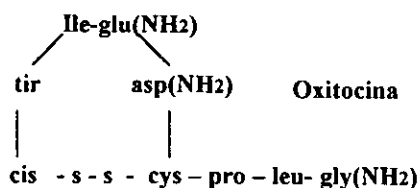


Figura No. 9 La oxitocina es una mezcla equimolar de 8 amino ácidos y 3 moles de amonio. La secuencia de amino ácidos deriva de la composición de 5 fragmentos peptídicos y de una ramificación en el fragmento 7. Cistina-tirosina-isoleucina-ác. aspártico y glutámico-cisteína-prolina-leucina y glicina (53).

La **oxitocina** (Figura No. 9), administrada vía intravenosa durante el segundo trimestre raramente es eficaz para terminar el embarazo intacto de una mujer sana. Sin embargo, en circunstancias de enfermedad materna grave, especialmente enfermedad vascular o enfermedades complicadas por hipoxia materna, es mucho más probable que la oxitocina intravenosa realice contracciones eficaces que consigan la evacuación del útero (29 y 32).

Una vez que el cérvix ha experimentado algún grado de dilatación, espontáneamente o como consecuencia de algún otro producto como la prostaglandina PGF2a, es mucho más probable que la oxitocina demuestre ser eficaz para evacuar los productos de la concepción (32).

Existen complicaciones por la utilización de la oxitocina. Si se administran volúmenes apreciables de una solución sin electrolitos junto con la oxitocina puede desarrollarse una intoxicación hídrica.

El desgarre del útero por la oxitocina infundida durante la primera mitad del embarazo ha sido probada en mujeres múltiparas pero es poco probable. La rotura del istmo o del cérvix esta bien demostrada en los casos en que se administró oxitocina después de la PGF2a. Un bolo de oxitocina intravenosa puede provocar una hipertensión molesta (24).

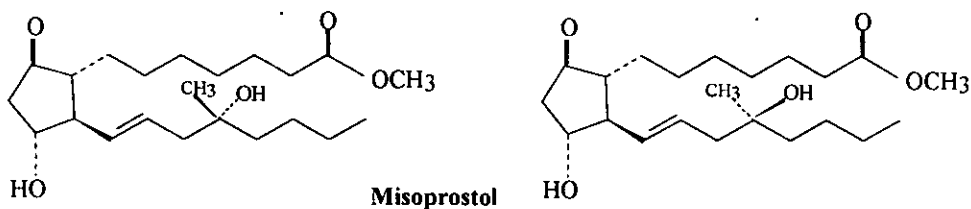


Figura No. 10. Nombre químico de los diastereoisomeros del misoprostol
(±) metil 11 α ,1,6-dihidroxi-16 metil-9-oxoprost-13 E-en-1-oato

El **misoprostol** (Figura No. 10), es un compuesto sintético análogo a la prostaglandina E1.

Este compuesto actúa a nivel de receptores de prostaglandinas tipo E pero no así del tipo F, I o sustancias como la histamina y cimetidina. Produce contracciones uterinas, ocasionando la expulsión parcial o total del contenido uterino(32).

El misoprostol está formado por dos diastereoisomeros:

Los anticonceptivos administrados habitualmente (diaria, mensual o anualmente) como los contraceptivos hormonales, dispositivo intrauterino (DIU) y la hormona gonadotrofina coriónica humana (GCh), u otros pueden inducir el aborto por diferentes mecanismos de acción, como se describen a continuación: (6,22,31,32,35,54)

Los **preparados pre o postcoito**, como son los anticonceptivos hormonales orales tienen el siguiente mecanismo de acción (32).

1. Inhibición de la liberación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona foliculo estimulante (FSH) a nivel hipotálamico-hipofisario.
2. Alteración de la motilidad de las trompas de Falopio, los estrógenos la incrementan y los progestagenos la disminuyen.
3. Modificación en el desarrollo del endometrio.

4. Alteración del moco cervical, por lo que el punto 2 y 3 tienen un claro efecto de antiimplantación (abortivo), cuando van precedidos de la fertilización del óvulo.

Esto nos lleva a concluir que cuando se utilizan preparados hormonales por periodos largos y al suprimir su administración estos tienden a provocar abortos debido a que el ovario puede restablecer su funcionamiento, pero el endometrio tarda aproximadamente cuatro meses en recuperarse.

La **minipíldora** está compuesta por dosis muy bajas de hormona, 3 a 4 veces menos que las píldoras normales. El uso de las minipíldoras origina un bloqueo de la ovulación en un 50 % de los ciclos y la eficacia contraceptiva que se presenta se desarrolla a nivel de la trompa, el endometrio y del cérvix uterino. Se ha comprobado que las minipíldoras producen niveles de gonadotropinas casi normales, a veces picos de LH y ovulaciones, existen secreciones de esteroides, alteración del moco cervical y continúan siendo anticonceptivos al alterar el desarrollo del endometrio y la implantación del embrión. Por su actuación en el endometrio se convierte en ocasiones en un medio abortivo (32).

Píldora del día antes o píldora del día después, estas píldoras están compuestas por estrógenos, progestanos, o una combinación de ambos, que se toma dentro de las 72 horas posteriores a la relación sexual en dosis elevadas (250 a 400 mg); el objetivo de esta toma masiva de hormonas es impedir la implantación del óvulo fecundado por la modificación del endometrio y del moco cervical. Si tras la ingestión de estos compuestos no se elimina el embrión, la probabilidad de que se produzcan malformaciones aumentan considerablemente (32 y 35).

Dispositivo intrauterino (DIU): es un dispositivo hecho de diferentes materiales y de distintas formas que se inserta en la cavidad uterina, actuando como un cuerpo extraño irritante o que libera hormonas dando lugar a la formación de una hipertrofia o necrosis del endometrio que imposibilita la anidación, provoca una alteración del pH intrauterino por interacción del endometrio con la composición del DIU, o una alteración en la producción de hormonas (32 y 35).

Implante subcutáneo, se trata de cápsulas de silicona u otro material a fin que se implanta subcutáneamente, que contiene microcristales de un progestágeno o estrogéno más un progestágeno de liberación retardada. Actúa alterando la estructura del endometrio, logrando que el producto de la concepción no llegue a la implantación y se produzca un microaborto (32).

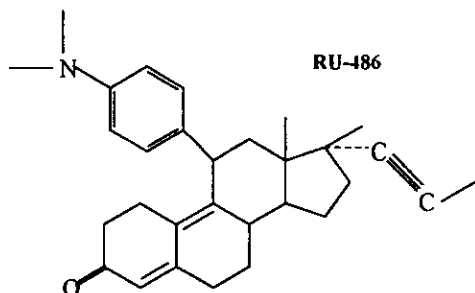


Figura No. 11. El Ru-486 o mifepriestona es un derivado de la progesterona. en la posición 11 esta sustituido por un 19 noresteroides (56).

Mifepriestona (RU-486), (Figura No. 11): es un 19 noresteroides que interactúa con el receptor glucocorticoides y con el receptor de la progesterona, produciendo un aborto químico al bloquear la acción de la progesterona, que es una hormona necesaria para la anidación y desarrollo del embarazo. Tiene un efecto claro abortivo, ya que después de su administración, tras la implantación, se origina una lesión en el endotelio vascular con un incremento en la producción de prostaglandinas, descamación de la mucosa uterina y aumento de la contractilidad del miometrio, que provocan un desprendimiento placentario y una disminución de la hCG que tiene un efecto luteolítico irreversible. La RU-486, no causa aborto en el 100% de los casos debido a que el fármaco no llega a alcanzar niveles hemáticos suficientes para antagonizar la progesterona en circulación. Las dosis utilizadas varían entre 400 mg (100 mg por 4 días) y 800 mg (400 mg por 2

días) en los primeros 10 días con niveles altos de Gch, progesterona y estranos, sugestivos de embarazo.

Entre los efectos dañinos se encuentran dolorosas contracciones, náuseas vómitos, diarrea y abundante hemorragia que dura días; además de que puede causar infarto al miocardio y arritmia ventricular (6,10,30,31,32,42,43,52 y 56).

Vacuna anti-Gch (Gonadotrofina coriónica humana), está hormona es la señal que el embrión en desarrollo le envía al útero para que este mantenga el crecimiento necesario durante los primeros meses del embarazo, de esta manera el embrión pueda implantarse y desarrollarse en él. Si los niveles de Gch bajan durante las 6-10 primeras semanas, el nuevo ser morirá y sería desprendido de la cavidad uterina, produciendo un aborto temprano.

1.6.5.Principales complicaciones causadas por los métodos abortivos más frecuentemente utilizados

La frecuencia de las complicaciones está directamente relacionada con la edad gestacional del embarazo y con el método empleado. Se duplica cada dos semanas después de la 8ª semana. Las complicaciones iniciales graves incluyen perforación uterina (0.1 %) con alguno de los instrumentos empleados para el aborto (algunas veces también se lesiona el intestino u otros órganos), hemorragia importante (0.06 %) que puede ser secundaria a un traumatismo del útero o a un útero atónico, hemorragia tardía a causa de retención de placenta o de infección. La laceración del cuello (0.1 a 1%) comprende desde el desgarre superficial por la pinza de cuello hasta una fistula cervicovaginal, asociada a alguna técnica de perfusión durante el 2º trimestre. Pueden presentarse los efectos indeseables de la anestesia local o general.

Las complicaciones tardías más frecuentes incluyen sangrado post - aborto debido a la

retención de fragmentos de placenta, infección (0.1 a 2 %) que comprende desde endometritis leve hasta inflamación pélvica grave, peritonitis, septicemia y tromboflebitis. Posteriormente a la infección pélvica a partir de sinequias en la cavidad endometrial puede producirse esterilidad (7,32 y 49).

Es posible la sensibilización al Rh si no se utiliza Ig Rh en mujeres Rh susceptibles. El efecto del aborto electivo sobre los embarazos siguientes continúa en discusión. Estudios extensos recientes no describen un aumento significativo del riesgo.

La dilatación forzada del cuello en embarazos avanzados puede predisponer a insuficiencia cervical. La frecuencia de las complicaciones, incluyendo la mortalidad, ha disminuido progresivamente.

El método más seguro es el legrado con aspiración, seguido de la dilatación, legrado, evacuación, la perfusión de prostaglandinas y la perfusión salina (29,31,32,33 y 49).

Se han descubierto muy pocos fármacos abortivos eficaces y que sean seguros al mismo tiempo, pero en determinado momento muchas sustancias han sido empleadas por mujeres desesperadas por su embarazo, dando como resultado una enfermedad sistémica grave e incluso la muerte pero no el aborto buscado.

Debido a la necesidad de encontrar fármacos que presenten efecto abortivo, es necesario la experimentación, siendo de gran importancia el uso de animales de laboratorio que nos pueda ayudar a obtener esta información. En este caso se utilizará como modelo experimental la rata, por lo que a continuación daremos un panorama general de la fisiología reproductiva de ésta especie.

1.7. Fisiología Reproductiva de la rata (4, 8 y 60).

Las ratas poseen una capacidad reproductiva considerablemente alta, su madurez sexual la adquiere alrededor de los dos meses; sin embargo, hay cepas en las que la madurez sexual se alcanza

cuando el animal tiene 3 o 4 meses de edad. Bajo condiciones de laboratorio con camadas continuas, una rata hembra puede producir hasta doce crías con intervalos de nacimiento de 2 a 3 semanas, las hembras pueden concebir inmediatamente después del parto. Durante el período de lactación, además, que su ciclo estral es prolongado e irregular; después de tres semanas de lactación el período del estro vuelve a ser regular y la hembra puede ser capaz de volver a concebir. Las ratas no tienen un período de reproducción por temporada, la hembra es poliéstrica y la espermatogenesis no es afectada por los ciclos circanuales. Se ha reportado que en algunas camadas puede haber un ligero declive en la razón de producción, siempre y cuando los animales no permanezcan bajo ciclos regulares de luz - oscuridad, así como un ambiente estable de temperatura. La capacidad reproductiva es ampliamente variada pero es más alta en cepas abiertas que en cepas cerradas, la baja reproductividad en cepas cerradas esta dada por camadas pequeñas y/o grandes intervalos entre cada nacimiento. Las hembras primíperas usualmente tienen camadas pequeñas, pero el número de crías en cada camada se incrementa con las concepciones repetidas, el tamaño máximo de una camada se obtiene entre la cuarta y la sexta, posteriormente declina. En lo general el número de crías promedio que llega a tener en cada camada una rata hembra son 12 (4,8 y 60).

1.7.1. El ciclo estral (4 y 8).

En los animales inferiores los cambios periódicos en la secreción de hormonas sexuales, vías reproductoras y conducta, se denominan ciclo estral.

La fecundidad de una hembra esta dada por la regularidad de sus ciclos estrales.

El comienzo aproximado y la duración de los eventos de los ciclos estrales de la rata se mencionan a continuación.

Diestro: es el período entre el estro y el siguiente proestro. Hay cambios en el epitelio del útero y aumenta el riego sanguíneo, pero sin degeneración durante el diestro. En el frotis vaginal se observan leucocitos polimorfonucleares y puede presentar o no moco, el tiempo de duración aproximado es de 6 horas (Figura No. 12) (4,8,12,21 y 60).

Estro: en esta etapa la ovulación es estimulada por la Hormona Luteinizante (LH) y se liberan varios óvulos. En frotis vaginales se observan células epiteliales cornificadas, este período tiene un tiempo de duración de 18 a 20 horas. (Figura No. 12) (4,8,12, 21 y 60).

Proestro (largo): es la fase durante la cual tiene lugar la maduración de los folículos por influencia de la Hormona Folículo Estimulante (FSH), y se liberan estrógenos. Hay presencia de leucocitos polimorfonucleares, células nucleadas y células epiteliales cornificadas. Tiempo aproximado de duración 60 horas. (Figura No. 12) (4,8,12, 12 y 60).

Proestro (corto): durante esta etapa se empiezan a desarrollar los cuerpos amarillos, que producen testosterona y luego involucionan. En este periodo solo se observan células nucleadas, el tiempo de duración estimado es de 12 horas. (Figura No. 12) (4,8,12,21 y 60).

Metaestro: esta etapa tiene una duración de ocho horas, es muy pequeña y da comienzo en seguida al estro.

Existen cambios de las células epiteliales de la vagina que pueden identificarse con frotis vaginales y suelen utilizarse para determinar la fase del ciclo.

El ciclo estral completo comprende unos cuatro días, pero se suspende si se alterna el tiempo día - noche por el papel del reflejo retina – pineal para regular la producción de melatonina y, por lo tanto, la secreción de estrógeno.

1.7.2. Fases del ciclo estral.

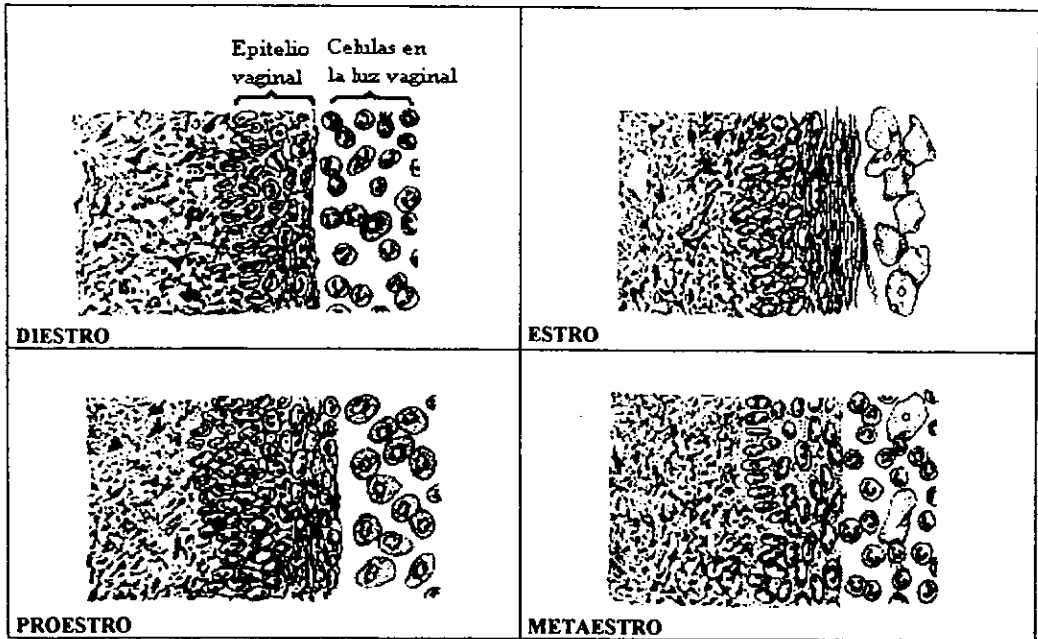


Figura No. 12. En está figura se muestran los diferentes tipos de células que se presentan en un frotis vaginal de la rata en sus diferentes fases del ciclo estral (8 y 57).

2.1 Planteamiento del problema:

La creciente necesidad de métodos eficaces encaminados hacia el control de la natalidad, han fomentado la búsqueda de nuevas sustancias capaces de lograrlo, lo cual nos lleva realizar estudios farmacológicos de productos naturales que puedan tener propiedades útiles para este fin. Por lo que, se pretende hacer estudios preliminares con tendencia a comprobar si dos plantas del género *Aristolochia*, de origen mexicano, *Aristolochia grandiflora* y *Aristolochia littoralis* tienen efecto abortivo, dado que estas dos especies han sido utilizadas en la medicina tradicional para este fin.

3.1. Objetivo.

1. Determinar el posible efecto abortivo de los extractos metanólicos de *A. grandiflora* y *A. littoralis* administradas por vía esofágica a una dosis de 200 mg / kg en ratas a diferentes tiempos de gestación determinado.
2. Determinar si los extractos acuosos de *Aristolochia grandiflora* y *Aristolochia littoralis* administrado a ratas oforectomizadas por vía esofágica a una dosis de 200 mg / kg puede producir cambios histológicos en el útero.

3.2. Hipótesis.

1. Si se sabe que los extractos de las plantas de la familia *Aristolochiaceae* posee efectos abortivos entonces los extractos metanólicos de las aristolochias, *A. grandiflora* y *A. littoralis* poseen el mismo efecto abortivo al aplicarlo en hembras gestantes, por lo tanto, habrá una disminución considerable en la producción de crías en ambos casos.
2. Si se administran los extractos acuosos de *A. grandiflora* y de *A. littoralis* a hembras oforectomizadas y produce cambios histológicos considerables en los úteros de las ratas entonces podríamos decir que estos extractos actúan a nivel celular en el músculo liso.

4.1 Material, reactivos y equipo.

Material Biológico

- Ratas hembra cepa Wistar de 250 ± 50 g.
- Ratas hembra cepa Wistar de 250 ± 50 g con cinco días de preñez aproximadamente.
- Ratas hembra cepa Wistar de 250 ± 50 g con ooforectomía.

Nota: Se utilizaron ratas primíparas que se mantuvieron en el Bioterio de la Facultad de Química, UNAM., en un cuarto con las siguientes condiciones: temperatura ambiente, ciclos de luz - oscuridad (12/12 h), 55 a 60 % de humedad relativa, agua y alimento (Nutricubos, Purina) ad libitum.

Material de Laboratorio:

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cajas Petri
- Pipetas graduadas de 5 y 10 ml
- Jeringas de 3 ml desechables
- Vasos de precipitado de 50, 100 y 500 ml
- Probeta graduada de 100 ml
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml
- Matraces volumétricos de 10 ml
- Matraz de bola de 1000 ml
- Embudo de filtración rápida
- Mechero de Bunsen
- Tripie
- Anillo metálico y tela de asbesto
- Tijeras con punta roma
- Tijeras curvas
- Pinzas de disección con dientes de ratón
- Pinzas de disección planas
- Espátula metálica

Material diverso:

- Papel filtro
- Agujas para sutura
- Suturas
- Sondas esofágicas para rata
- Cajas de acrílico con tapa para rata
- Algodón

Equipo:

- Balanza analítica (ER-VA)
- Balanza granataria (E. METTER)
- Rota evaporador.
- Microscopio (SPENCER)

Reactivos:

- Agua destilada
- Metanol
- Solución de extracto metanólico de *Aristolochia grandiflora* 200 mg / ml
- Solución de extracto metanólico de *Aristolochia littoralis* 200 mg / ml
- Solución de extracto acuoso de *Aristolochia grandiflora* 200 mg / ml
- Solución de extracto acuoso de *Aristolochia littoralis* 200 mg / ml
- Solución de formol al 10 %.

Nota: Extractos proporcionados por la sección de Síntesis Orgánica del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, UNAM.

Observaciones: La preparación de los reactivos, soluciones de extractos metanólicos y acuosos de las aristolochias: *Aristolochia grandiflora* y *Aristolochia littoralis*, ver Apéndice I.

4.2 Metodología

4.2.1 Experimento A

En este primer experimento se utilizaron 40 ratas hembra integras, cepa Wistar con peso de 250 ± 50 g, con 5 días de gestación aproximadamente; se formaron aleatoriamente 8 lotes de 5 ratas cada uno para formar los siguientes grupos:

I. Grupo control.

- Ratas sin administración.
- Ratas con administración del vehículo (metanol), al 7º, 14º y 19º día de gestación.

II. Grupo tratado con solución de extracto metanólico de *Aristolochia grandiflora* administrados por vía oral dosis de 200 mg/ kg (200 mg /ml).

- Ratas con administración al 7º día de gestación.
- Ratas con administración al 14º día de gestación.
- Ratas con administración al 19º día de gestación.

III. Grupo administrado con solución de extracto metanólico de *Aristolochia littoralis* administrados por vía oral dosis de 200 mg/ kg (200 mg /ml).

- Ratas con administración al 7º día de gestación.
- Ratas con administración al 14º día de gestación.
- Ratas con administración al 19º día de gestación.

Las ratas de cada grupo fueron administradas por vía esofágica, en el caso de los grupos tratados con las soluciones de los extractos metanólicos de las *Aristolochias* se utilizó dosis única de 200 mg/ kg de peso, y del vehículo a razón de 0.1 ml / 100 g de peso, al 7º. 14º y 19º día de gestación.

Después de los 21 días de gestación se contabilizaron las crías obtenidas de cada grupo, con el fin de determinar en que etapa de la gestación, los extractos probados podrían presentar efecto abortivo.

Recopilación de los resultados:

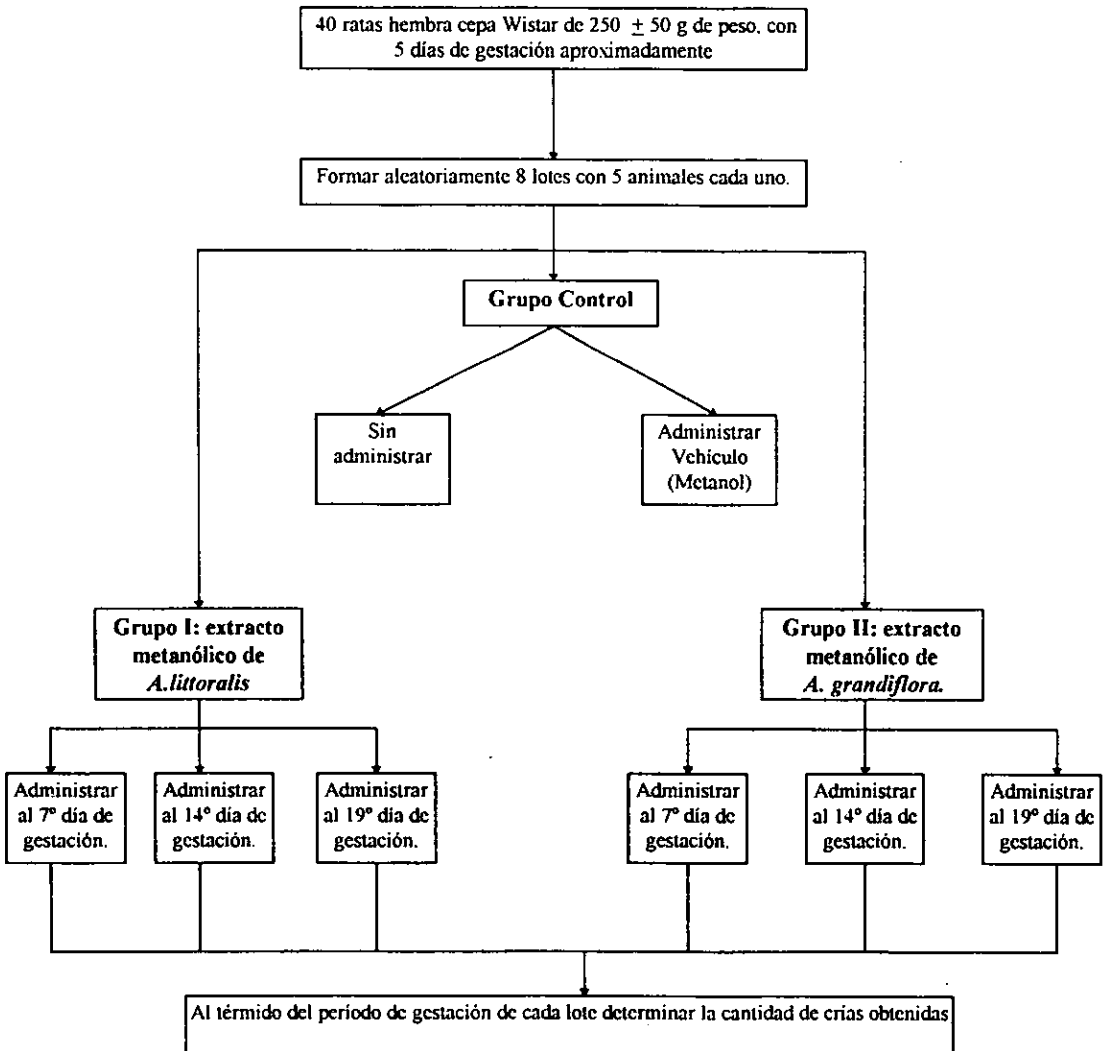
Una vez cumplido el tiempo de gestación de las ratas (21 días), se procedió a contar el número de crías de cada una de las ratas, de los lotes de los tres grupos en estudio, teniendo como parámetro que el número de crías obtenidos por una rata en condiciones similares en las que trabajamos de temperatura ambiente, cuarto de luz - oscuridad (12 -12 h) y de 55-0 % de humedad relativa, es de 12 crías normalmente.

Análisis estadístico de los resultados:

El análisis estadístico se realizó por medio de la prueba de U de Mann - Whitney (11), debido al número de datos obtenidos y a la heterogeneidad de varianza (11).

4.2.2. Diseño experimental.

Experimento A.



4.2.3. Experimento B.

Se usaron 40 ratas cepa Wistar de 250 ± 50 g de peso.

Se realizó citología vaginal para determinar la fase del ciclo estral en el que se encontraban.

Se eligieron al azar 10 ratas para dejarlas como grupo control.

Se ooforectomizaron las 30 ratas restantes y se dividieron en 3 lotes de 10 ratas cada uno.

Se administraron por vía esofágica cada tercer día durante dos semanas de la siguiente forma:

- Grupo control: lote de 10 ratas sin ooforectomizar.
- Grupo de experimentación: al primer lote se le administró el vehículo (agua destilada) a razón de 0.1 ml / 100 g de peso; al segundo la dosis de 200 mg / kg de una solución de extracto acuoso de *Aristolochia littoralis*, y por último al lote número tres se administró extracto acuoso de *Aristolochia grandiflora* de 200 mg / kg.

Al término de éste lapso se realizó frotis vaginal para determinar la fase del ciclo en la que se encontraba cada una de las ratas, posteriormente fueron sacrificadas, se les extrajo el útero a cada una de ellas, se pesaron y se colocaron en solución de formol al 10 %, posteriormente se realizarón cortes histológicos y se mandaron a encapsular en cera. Se procedió a hacer el estudio histopatológico para determinar algún cambio significativo a nivel tisular en los úteros.

Recopilación de datos:

Citología vaginal, al inicio del experimento y antes de ser sacrificada.

Las ratas de cada uno de los lotes se pesaron a los diferentes días de administración, se determinó el peso promedio y se elaboraron gráficas para comparar la ganancia de peso de cada uno de los grupos tratados con respecto al tiempo de administración.

Los úteros de las ratas de cada grupo se pesaron, se normalizó el peso de los úteros mediante la siguiente fórmula: $(\text{peso útero} / \text{peso corporal}) \times 100$.

Con los resultados obtenidos se realizó la gráfica comparativa del peso promedio con respecto al tratamiento dado en cada lote.

Descripción macroscópica y descripción de los resultados del estudio histopatológico de los úteros de la rata.

Análisis estadístico de los resultados:

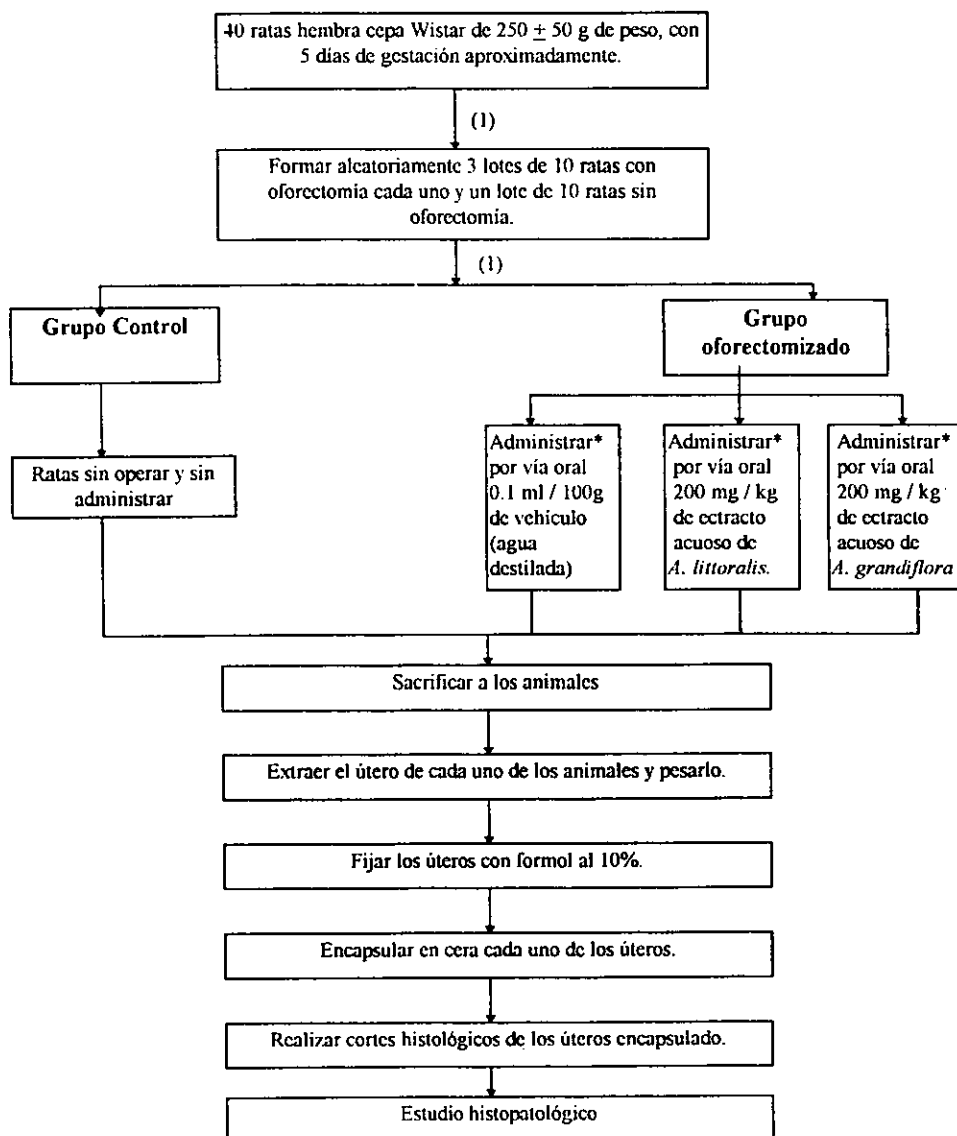
El análisis estadístico se realizó por medio de la prueba de X^2 de Barlett, para verificar homogeneidad de las varianzas; posteriormente se realizó la prueba de t de estudent - Welch (11).

Nota: El estudio histopatológico fue realizado en colaboración con el M.V.Z. José Ramírez Lezama en el Depto. de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

4.2.4. Diseño experimental.

Experimento B



Nota: (1) Realización de citología vaginal

* Administración cada tercer día por dos semanas.

5.1 RESULTADOS.

Los resultados fueron ordenados de la siguiente forma:

Experimento A:

- Promedio del número de crías obtenido, después de la administración del vehículo (metanol 0.1 ml / 100 g) y de los extractos metanólicos de *Aristolochia littoralis* y *Aristolochia grandiflora* a diferentes tiempos de gestación.
- Gráfica del número de crías obtenidas de los diferentes grupos tratados con respecto al tiempo de gestación.
- Análisis estadístico (Error estándar y Prueba de U de Mann-Whitney) (11).

Experimento B:

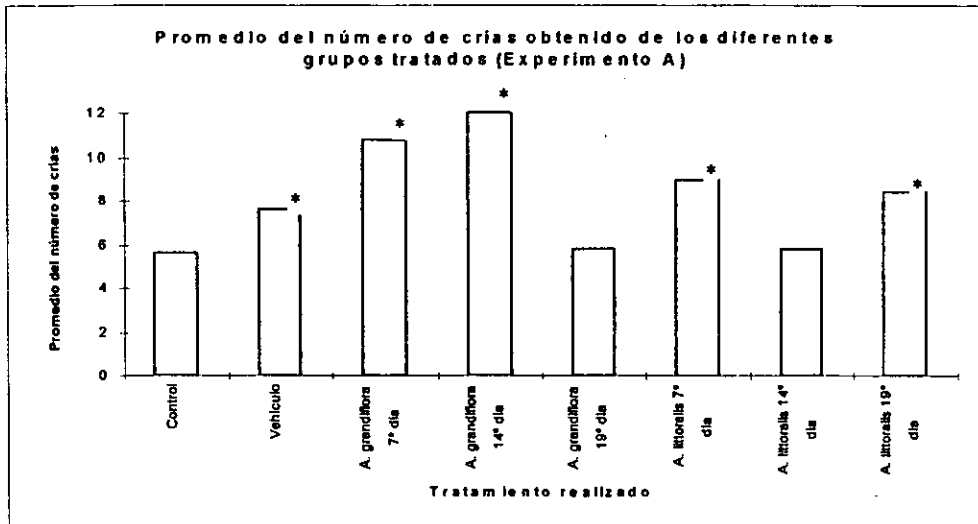
- Citología vaginal de todas las ratas de cada uno de los grupos (inicio del experimento y antes de ser sacrificadas las ratas).
- Peso promedio de las ratas del grupo control y de los grupos tratados con los extractos acuosos de *Aristolochia littoralis* y *Aristolochia grandiflora* y del administrado con vehículo (agua destilada) a razón de 0.1 ml / 100 g.
- Promedio del peso normalizado de los úteros de las ratas de cada uno de los grupos (control, vehículo (agua destilada), *Aristolochia littoralis* y *Aristolochia grandiflora*).
- Gráfica del peso promedio de úteros con respecto al tratamiento.
- Análisis estadístico (Error estándar y Prueba de t de student- Wech) (11).
- Descripción macroscópica de los úteros de rata.
- Descripción del estudio histopatológico de los úteros de rata.

5.2. Experimento A.

Tabla No. 4. Promedio del número de crías obtenido de cada uno de los grupos tratados.

| TRATAMIENTO | PROMEDIO DE CRÍAS | E.S |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----|
| Control | 5.6 | 3.5 |
| Vehículo | 7.6 | 3.2 |
| Extracto metanólico de <i>A. grandiflora</i> administrado por vía oral 200 mg / kg al 7° día de gestación. | 10.8 | 2.9 |
| Extracto metanólico de <i>A. grandiflora</i> administrado por vía oral 200 mg / kg al 14° día de gestación. | 12.0 | 2.3 |
| Extracto metanólico de <i>A. grandiflora</i> administrado por vía oral 200 mg / kg al 19° día de gestación. | 15.0 | 2.6 |
| Extracto metanólico de <i>A. littoralis</i> administrado por vía oral 200 mg / kg al 7° día de gestación. | 9.0 | 2.4 |
| Extracto metanólico de <i>A. littoralis</i> administrado por vía oral 200 mg / kg al 14° día de gestación. | 5.8 | 2.7 |
| Extracto metanólico de <i>A. littoralis</i> administrado por vía oral 200 mg / kg al 19° día de gestación. | 8.4 | 3.5 |

E.S= Error estándar



Gráfica No. 1 Comparación de los promedios del número de crías obtenidas de los grupos control (sin administración), vehículo (metanol) y administrados con los extractos metanólicos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* a los diferentes tiempos de gestación. *Diferencias significativas encontradas al realizar la prueba de U de Mann-Whitney con $n_1=5$ y $n_2=5$.

En la Gráfica 1: se puede apreciar que el grupo control fué el lote donde se obtuvo el menor número de crías, no hubo diferencias significativas al realizar la prueba de U de Mann-Whitney de este lote con respecto a los lotes administrados con *A. grandiflora* al 19° día de gestación y el de *A. littoralis* al 14° día de gestación; con respecto a los demás grupos se observa que existió diferencias significativas con respecto al grupo control. Realizando la misma prueba estadística comparando los lotes de *A. grandiflora* y *A. littoralis* al mismo día de gestación (7°, 14° y 19° día) obtuvimos diferencias significativas.

5.3. Experimento B.

5.3.1. Citología vaginal.

Tabla No. 5. Citología vaginal realizado al inicio del experimento y antes de ser sacrificadas las ratas.

| Día | Antes | | | | Después | | | |
|-----|-----------|----------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-----------|-----------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| | Control | Vehículo | Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> | Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> | Control | Vehículo | Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> | Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> |
| 1 | Proestro | Proestro | Diestro | Proestro | Metaestro | Proestro | Diestro | Diestro |
| 2 | Diestro | Estro | Proestro | Estro | Proestro | Diestro | Metaestro | Metaestro |
| 3 | Diestro | Estro | Diestro | Estro | Proestro | Proestro | Proestro | Proestro |
| 4 | Proestro | Diestro | Proestro | Proestro | Diestro | Estro | Diestro | Estro |
| 5 | Diestro | Proestro | Estro | Diestro | Metaestro | Diestro | Metaestro | Proestro |
| 6 | Diestro | Proestro | Estro | Proestro | Estro | Metaestro | Estro | Diestro |
| 7 | Diestro | Diestro | Proestro | Proestro | Metaestro | Estro | Proestro | Metaestro |
| 8 | Proestro | Proestro | Proestro | Proestro | Proestro | Metaestro | Proestro | Diestro |
| 9 | Proestro | Proestro | Diestro | Proestro | --- | Diestro | Diestro | Estro |
| 10 | Metaestro | Diestro | Proestro | Proestro | Proestro | Proestro | Diestro | Proestro |

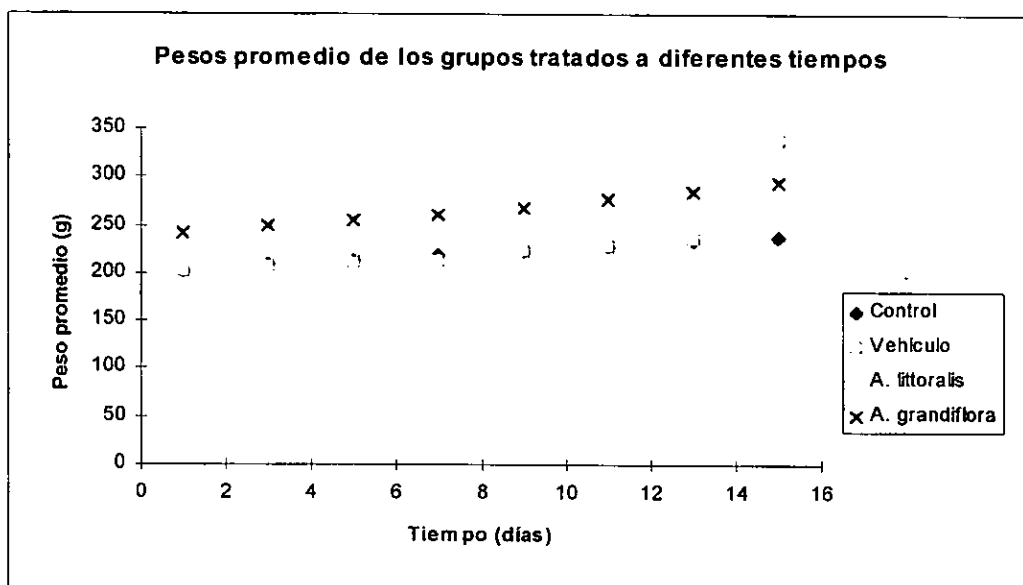
Nota: El grupo control fueron ratas sin ooforectomía, los grupos restantes fueron ratas ooforectomizadas.

La citología vaginal se realizó para determinar la fase del ciclo estral en la que se encontraban las ratas al inicio del experimento y antes de ser sacrificada después de haber sido tratadas.

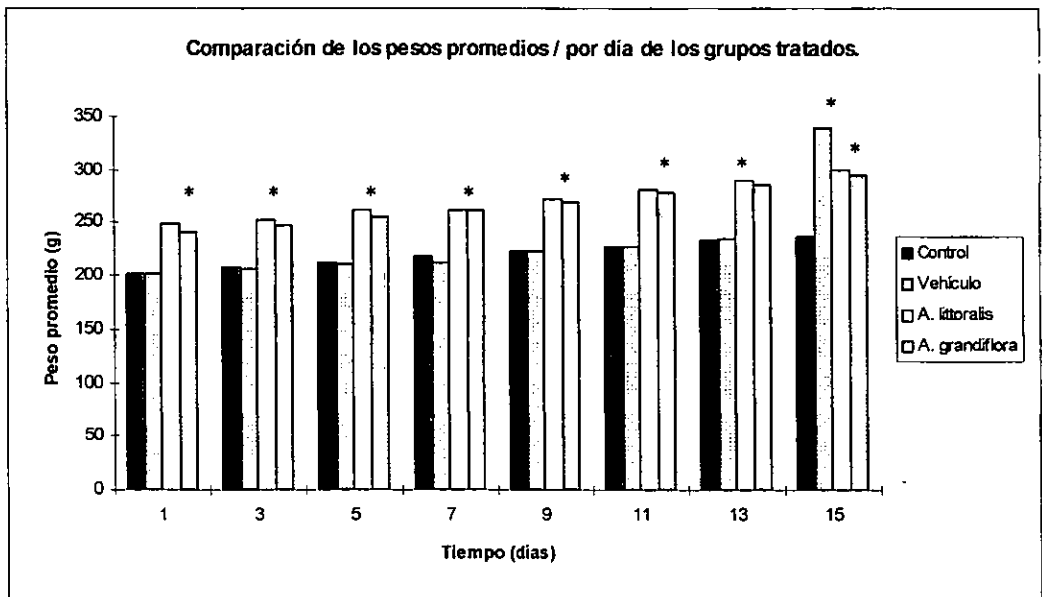
5.3.2. Peso promedio de los grupos tratados a diferentes tiempos.

Tabla No. 6. Peso promedio (g) de las ratas de cada uno de los grupos tratados a diferentes tiempos.

| Peso promedio (g) \pm E.S. | | | | |
|------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Ratas con ooforectomía | | | | |
| Día | Control (Sin administración) | Vehículo (Agua destilada) administrado por vía oral 0.1 mg /100 ml | <i>A. littoralis</i> 200 mg / kg administrado por vía oral. | <i>A. grandiflora</i> 200 mg / kg administrado por vía oral. |
| 1 | 201.4 \pm 13 | 201.3 \pm 1.7 | 248.4 \pm 8.1 | 242.2 \pm 7.4 |
| 3 | 208.5 \pm 5.3 | 206.4 \pm 2.0 | 252.9 \pm 8.3 | 248.2 \pm 7.5 |
| 5 | 212.8 \pm 5.1 | 211.1 \pm 1.9 | 260.6 \pm 8.7 | 254.7 \pm 7.7 |
| 7 | 218.0 \pm 12.2 | 213.0 \pm 2.3 | 261.8 \pm 9.0 | 260.9 \pm 7.8 |
| 9 | 223.4 \pm 5.2 | 223.0 \pm 2.5 | 271.4 \pm 9.4 | 268.7 \pm 7.9 |
| 11 | 228.4 \pm 4.8 | 227.9 \pm 2.7 | 281.1 \pm 9.9 | 278.2 \pm 7.6 |
| 13 | 233.3 \pm 4.8 | 235.6 \pm 2.9 | 291.1 \pm 10.5 | 285.6 \pm 8.3 |
| 15 | 237.4 \pm 4.6 | 339.2 \pm 2.9 | 300.2 \pm 11 | 294.7 \pm 8.4 |

Gráfica No. 2. Comparación de los pesos promedio de los grupos tratados a diferentes tiempos. Donde el grupo control ratas sin ooforectomía y los grupos restantes son ratas ooforectomizadas. Se administró extracto acuoso de *A. littoralis* y *A. grandiflora* a razón de 200 mg / kg y, el vehículo (agua destilada 0.1 mg / 100 ml).

En esta gráfica podemos observar que existe una relación directamente proporcional del peso de las ratas conforme transcurre el tiempo, sin importar el tratamiento realizado, aunque comparando cada uno de los grupos observamos una estrecha relación de los grupos administrados con *A. littoralis* y *A. grandiflora*, y del grupo control y el grupo vehículo (agua destilada). Existe una marcada diferencia de los grupos (control y vehículo) con respecto a los grupos tratados con los extractos acuosos de las *Aristolochias*, observando que estos últimos ayudan al incremento del peso de las ratas.



Gráfica No. 3 Comparación del peso promedio (g) de las ratas de los grupos tratados por día.

* Diferencia significativa encontradas al realizar t de student con $p=0,05$

En esta gráfica se puede observar las diferencias entre los grupos control y vehículo con respecto a los tratados con los extractos acuosos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*.

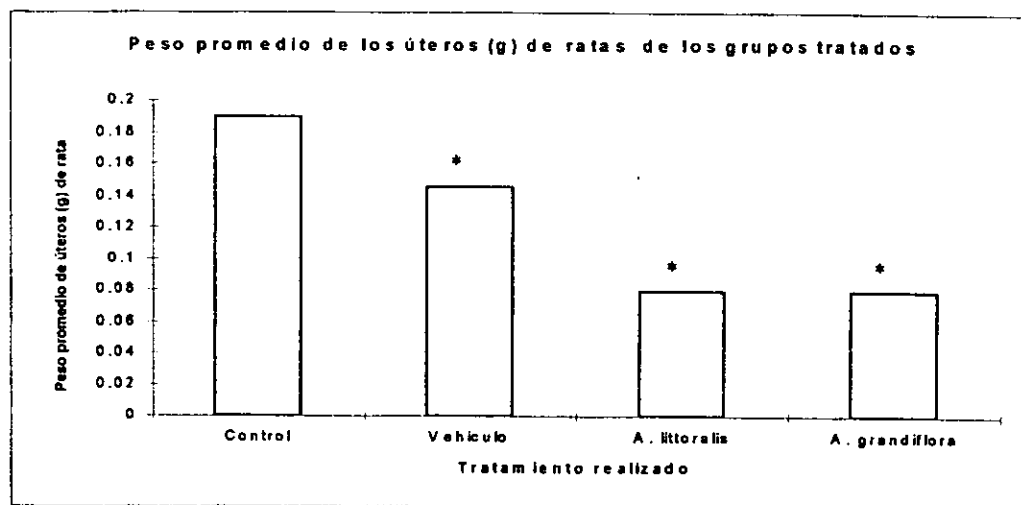
Estadísticamente se encontraron diferencias significativas entre el grupo control con respecto

a los grupos tratados con los extractos acuosos de las *Aristolocias* en los diferentes días de administración. En cambio en la comparación de grupo control con respecto al vehículo no hubo diferencias significativas exceptuando el día 15; en la comparación de los grupos de *A. littoralis* con *A. grandiflora* en los diferentes días en los que se administraron no hubo diferencias significativas.

5.3.3. Peso promedio de úteros de rata de los grupos tratados.

Tabla No. 7. Peso promedio (g) de los úteros de rata de los grupos tratados.

| Rata | Grupo Control | Grupo administrado con vehículo (agua destilada 0.1 ml / 100 g) | Grupo administrado con <i>A. littoralis</i> . (200 mg / kg) | Grupo administrado con <i>A. grandiflora</i> (200 mg / kg) |
|------|---------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| x | 0.1894 | 0.1459 | 0.0788 | 0.0794 |
| E.S | 0.0136 | 0.0090 | 0.0098 | 0.0019 |



Gráfica No. 4. Comparación del peso promedio de los úteros de las ratas que fueron administradas con vehículo (agua destilada 0.1 ml / 100 g), extracto acuoso de *A. littoralis* y *A. grandiflora* (200 mg / Kg) y del grupo control.

* Diferencias significativas con respecto al grupo control realizando la prueba de t de student -Wech con $p=0.05$.

Como podemos observar en la gráfica se aprecian diferencias entre el lote del grupo control (ratas sin ooforectomía) con respecto a los grupos con ooforectomía (vehículo, *A. littoralis* y *A. grandiflora*), estadísticamente hubo diferencias significativas a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

En lo que respecta a los grupos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*, no se observó cambios significativos a un nivel de significancia $\alpha= 0.05$.

Las diferencias del promedio del grupo control con respecto a los grupos con ooforectomía se puede deber principalmente a la realización de la ooforectomía. Sin embargo se observaron claramente diferencias entre el grupo vehículo con respecto a los grupos tratados con *A. littoralis* y *A. grandiflora*, debida principalmente a los extractos mismos así como su probable acción en el útero sobre el músculo liso.

5.3.4. Descripción macroscópica de los úteros de rata.

Tabla No. 8. Descripción macroscópica y comparación en forma generalizada de los úteros de ratas tratadas en el experimento B.

| | LOTE | OBSERVACIONES |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Control (sin administración) | Úteros de volúmen considerable en comparación con los úteros de los lotes tratados. Coloración rosada. |
| Con ooforectomía | Vehículo administración por vía oral (agua destilada 0.1 ml / 100 g). | Úteros de menor tamaño y cuerno úterinos delgados en comparación con el grupo control. Coloración rosada. |
| | Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> , administrado por vía oral (200 mg / Kg). | Úteros de menor tamaño en comparación con el grupo control, pero de mayor tamaño en comparación con el vehículo, coloración rosa pálido con presencia de puntos en algunas partes del útero. |
| | Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> , administrado por vía oral (200 mg / Kg). | Úteros de menor tamaño en comparación con el grupo control, pero de mayor tamaño en comparación con el vehículo, cuernos distendidos, coloración rosa pálido con presencia de puntos blancos en todo el útero. |

En los lotes tratados con vehículo, *A. littoralis* y *A. grandiflora*, al abrir las ratas se encontró cantidad excesiva de grasa en comparación con el grupo control.

Se observó que los grupos tratados con los extractos presentaron un menor tamaño del útero al compararlos con el grupo control, y con respecto al grupo vehículo este fue menor.

5.3.5. Estudio histopatológico de útero de ratas, experimento B.

Tabla No. 9. Estudio histopatológico de muestras escogidas aleatoriamente de útero de rata de los lotes tratados en el experimento B.

| LOTE | DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Control 1 | Sección de útero sin cambios histopatológicos aparentes |
| Control 2 | Sección de útero sin cambios histopatológicos aparentes |
| Control 3 | Sección de útero sin cambios histopatológicos aparentes |
| Control 5 | Sección de útero sin cambios histopatológicos aparentes |
| Control 8 | Sección de útero sin cambios histopatológicos aparentes |
| Control 10 | Sección de útero sin cambios histopatológicos aparentes |
| Vehículo 3 (agua destilada 0.1 ml / 100 g) | Discreta proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Vehículo 6 (agua destilada 0.1 ml / 100 g) | Proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibrosos por debajo del epitelio de endometrio. |
| Vehículo 7 (agua destilada 0.1 ml / 100 g) | Poca cantidad de glándulas endometriales y proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Vehículo 9 (agua destilada 0.1 ml / 100 g) | Cambios degenerativos en el citoplasma de las células del epitelio glandular, proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Vehículo 10 (agua destilada 0.1 ml / 100 g) | Muerte celular de las células del epitelio de las glándulas endometriales, proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> 1 | Escasa cantidad de glándulas endometriales y proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> 2 | Escasa cantidad de glándulas endometriales y proliferación de linfocitos. |
| Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> 3 | Adenomiosis y proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> 5 | Escasa cantidad de glándulas endometriales y proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> 6 | Cambios degenerativos en el citoplasma de las células del epitelio de las glándulas endometriales y proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. littoralis</i> 8 | Adenomiosis y escasa cantidad de glándulas endometriales. |
| Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> 1 | Proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> 5 | Proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> 7 | Proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> 8 | Proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |
| Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> 9 | Cambios degenerativos en el citoplasma de las células del epitelio glandular y presencia de escasas glándulas uterinas. |
| Extracto acuoso de <i>A. grandiflora</i> 10 | Ausencia de epitelio endometrial, muerte celular (apoptosis) y proliferación de linfocitos y tejido conectivo fibroso por debajo del epitelio de endometrio. |

Nota: Estudio realizado en colaboración con el M.V.Z. José Ramírez Lezama en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

5.3.6. Fotografías de los cortes histológicos de útero de rata de los grupos tratados en el experimento B.

Fotografías de la muestra más representativa de cada uno de los grupos tratados.

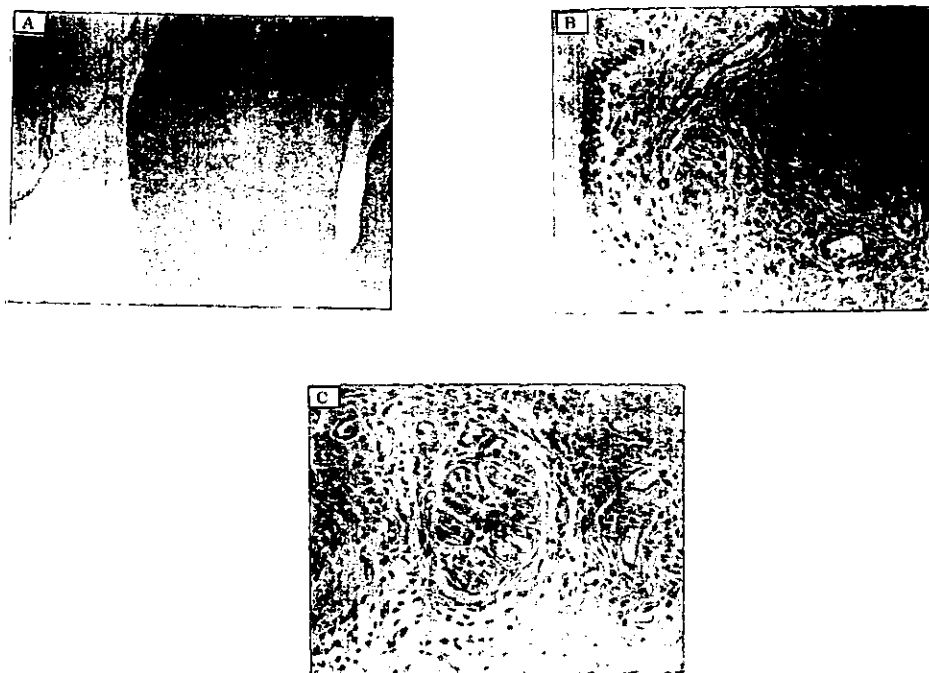


Figura No. 13. Características histológicas de útero de rata del control (5). Micrografía del corte histológico de útero a 10 X (A) 40 X (B) y 100 X (C). Nota: Véase Tabla No. 9.

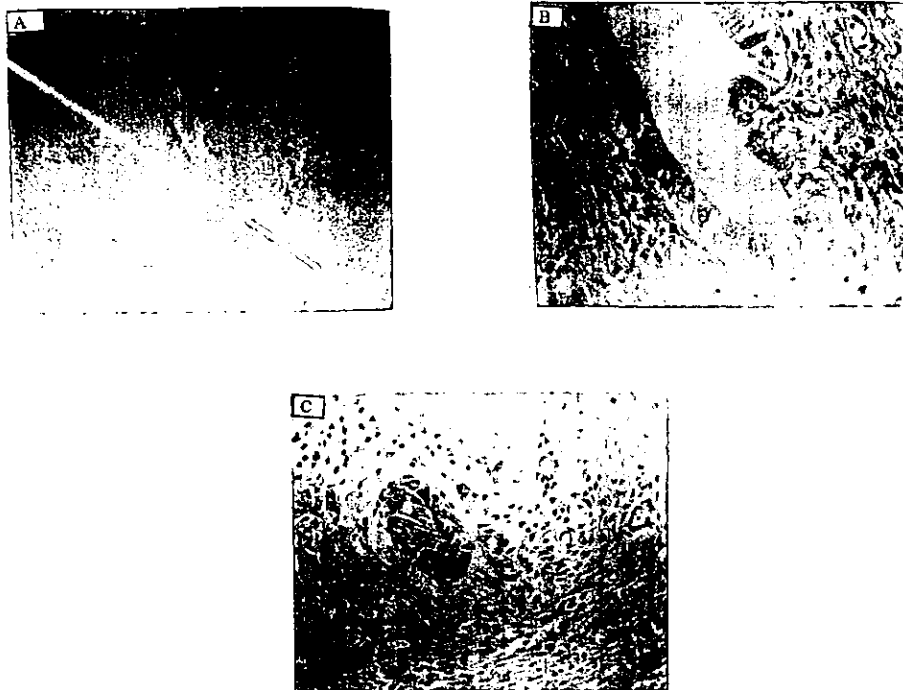


Figura No. 14. Micrografía del corte histológico de útero de rata tratada con agua destilada como vehículo (6), a 10 X (A), 40 X (B) y 100 X (C). Nota: Véase Tabla No. 9.

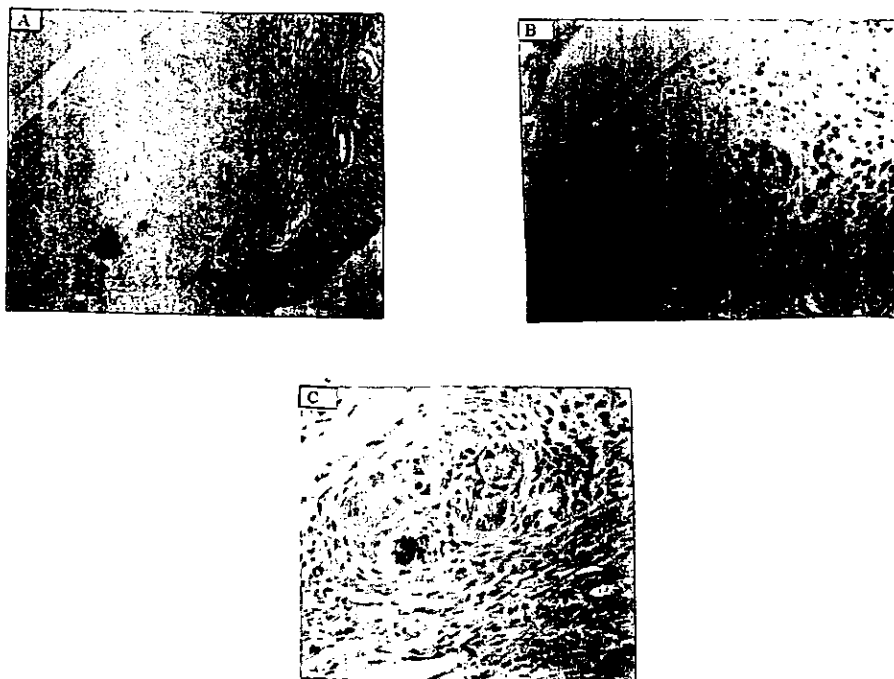


Figura No. 15. Micrografía del corte histológico de útero de rata tratada con *A. littoralis* (6), a 10 X (A), 40 X (B) y 100 X (C). Nota: Véase Tabla No. 9.

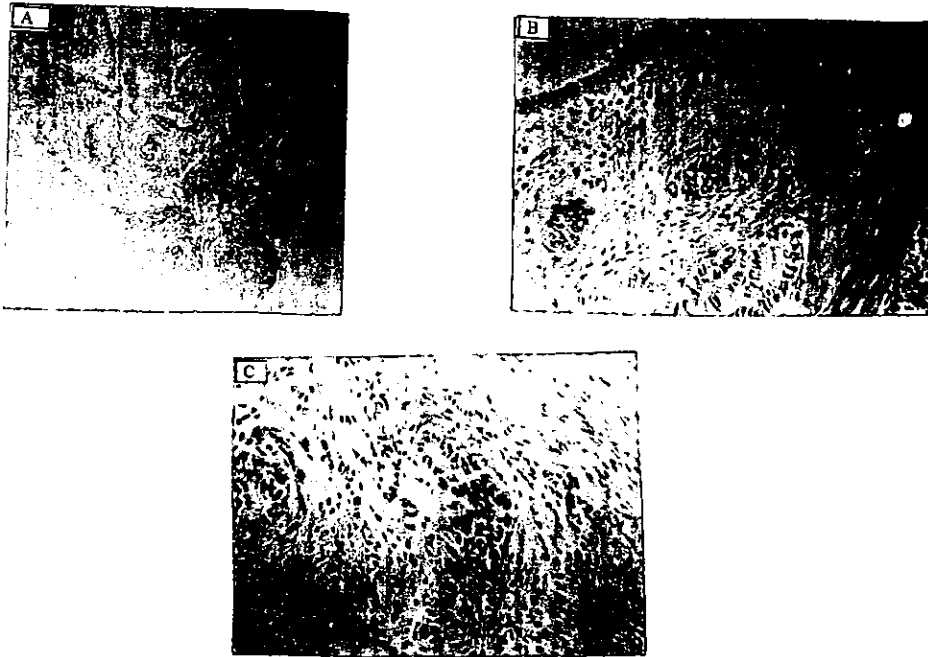


Figura No. 16. Micrografía del corte histológico de útero de rata tratada con *A. grandiflora* (10), a 10 X (A), 40 X (B) y 100 X (C). Nota: Véase Tabla No. 9.

6.1. Discusión de resultados.

De acuerdo a los resultados obtenidos con la administración aguda de los extractos metanólicos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*, administrados por vía oral a dosis única de 200 mg / kg de peso a ratas gestantes, donde contabilizamos el número de crías obtenidos, nos indican que tales extractos no poseen propiedades uterocinéticas que pudieran manifestarse como abortos.

Esto puede deberse a factores como:

1. Al hecho de que se trabajó con ratas primíperas, en donde no tuvimos la seguridad del 100 % de que éstas fueran fértiles o que quedaron preñadas en el lapso en el que estuvo con el macho, viéndose reflejado en los resultados obtenidos en el grupo control y el vehículo en los que esperábamos tener un promedio de 12 crías, siendo menor el resultado en ambos lotes (promedio de crías de 5.6 a 7.6) en comparación con los administrados con los extractos metanólicos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* (promedio de crías de 8.4-15), teniendo diferencias estadísticamente significativas del control con respecto a los lotes restantes, y no así en la comparación de los grupos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*, donde no hubo diferencias significativas.
2. Con respecto a la vía de administración de los extractos en las diferentes etapas de gestación fue la vía oral; en la cuál encontramos que, los grupos tratados con estos extractos no presentó diferencias significativas entre ellos, obteniéndose un promedio significativamente superior al número de crías obtenidas con la administración del vehículo o las ratas control; ya que esperábamos observar contracciones uterinas que se tradujeran en abortos, ya que estudios previos *in-vitro* con úteros aislados de rata, en los que se probaron los extractos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* mostraron propiedades uterocinéticas como aumento del tono y frecuencia de

contracción (57), por lo que tal discrepancia puede deberse a que se están degradando los principios activos o no están llegando al sitio de acción en el útero, ya que hay que tomar en cuenta que en estudios in-vivo tenemos factores que pueden afectar el comportamiento de una sustancia como son: las barreras fisiológicas, procesos de absorción, metabolismo, distribución y excreción así mismo de que estos pueden interactuar con otras sustancias o en otros sitios de acción, como podría ser el caso del tracto gastrointestinal que principalmente está constituido de músculo liso al igual que el útero.

3. Por otro lado aunque empleamos una dosis que ha sido reportada previamente como abortiva (200 mg / kg) con extractos de *Aristolochias* de otros países (45,46 y 48) no garantiza que los extractos utilizados tengan el mismo efecto o haber llegado al útero. con lo cual podemos argumentar que ambos extractos no están presentando el efecto abortivo o uterocinético que esperábamos; aunque sabemos que los principales compuestos aislados de las *aristolochias* son: el β -sitosterol y el ácido aristolóquico cuyas estructuras químicas pudieran ser susceptibles a biotransformación de primer paso, cuando son administrados por vía oral y que pudieran modificar sus propiedades o también es posible que el extracto con el que se trabajó no contenía la cantidad suficiente de estos compuestos, a los cuales se les atribuyen las propiedades abortivas de estas plantas; puesto que son compuestos poco polares y el metanol es un compuesto orgánico de polaridad alta.

Como sabemos el β -sitosterol es un esteroide que presenta el anillo base del ciclopentanoperhidrofenantreno, característico de hormonas como la progesterona la cuál es indispensable para el mantenimiento y desarrollo de la gestación con lo cual podríamos argumentar que tal vez la similitud de este compuesto con la progesterona nos indujo a tener un mayor número de crías en los lotes administrados con los extractos de las *Aristolochias*.

Haciendo referencia al experimento B:

Se utilizaron los extractos acuosos de las *Aristolochias* tomando en cuenta que el uso popular de estas plantas es en infusión acuosa, para obtener el efecto abortivo determinamos las acciones en el útero de la administración crónica de los extractos acuosos.

Primero se comparó el peso promedio de las ratas utilizadas de cada uno de los lotes tratados se observó que existe una relación entre los grupos tratados con los extractos acuosos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*, y , del grupo control con respecto al vehículo, observando que el vehículo no influyó en la potenciación del efecto de ambas *Aristolochias*, pero que estas están propiciando un aumento en el peso corporal de las ratas, infiriendo este tipo de extractos induce a una mayor ingesta de alimento.

En lo que respecta al peso de los úteros las diferencias estadísticas fueron significativas a un nivel de significancia de $\alpha < 0.05$ entre la comparación del grupo control que fue mucho mayor con respecto a los lotes administrados con las *Aristolochias* en estudio y el vehículo (agua destilada), estas diferencias pueden deberse principalmente a que en el grupo control se trabajó con ratas íntegras y a los grupos restantes se les extirparon los ovarios (oforectomía); provocando la disminución del peso de los úteros, ya que hay menor síntesis de hormonas (estrógenos), ocasionando un acumulo de grasa en cavidad abdominal, y oforectomizado, el ovario no sintetiza la grasa presente en los alrededores de útero y los ovarios para producir hormonas, por lo que el suministro de éstas al útero es poco, disminuyendo así su tamaño y peso, provocando el acumulo de grasa en esta cavidad.

En el estudio histopatológico realizado se observó diferencias significativas de la morfología celular de los úteros de las ratas que fueron oforectomizadas con respecto al grupo control (ratas íntegras), encontrando principalmente daño en el tejido conectivo, y en células endometriales;

también se pudo comprobar que el simple hecho de ooforectomizar a las ratas provoca cambios histológicos importantes, observados en las muestra de los úteros de ratas que fueron ooforectomizadas y sólo se les administro agua destilada como vehiculo.

Los hallazgos microscópicos obtenidos después de la administración crónica de los extractos acuosos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* a ratas ooforectomizadas nos muestran una atrofia del estroma, epitelio y miometrio del útero, lo que lo hace incapaz de permitir la anidación del óvulo fecundado, como se sabe al administrar estrogenos a animales adultos ooforectomizados inducen a un marcado efecto de hiperplasia de la luz epitelial con la producción de pequeñas proliferaciones en estroma y miometrio, así mismo algunos esteroides son capaces de bloquear específicamente la sustitución de DNA en el epitelio del útero, y los progestagenos producen un incremento en la proliferación de células estromales (7a), lo cuál nos lleva a pensar que el β -sitosterol, con estructura similar a la progesterona está actuando como esta, o antagonista a ella.

De acuerdo con lo anterior y el daño celular encontrado en los úteros de las ratas administradas con los extractos acuosos, llegamos a la conclusión de que existe un mayor efecto de hiperplasia sobre el endometrio del útero con el extracto acuoso de *A. grandiflora* que con el extracto acuoso de *A. littoralis*.

7.1. Conclusiones.

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluyó lo siguiente:

1. Los extractos metanólicos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*, no tuvieron efecto abortivo o uterocinético en las tres etapas de la gestación, probados en rata como se observa *in-vitro* en estudio previos.
2. Los extractos acuosos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*, indujeron cambios histológicos relevantes en los úteros de ratas oforectomizadas, lo que puede ser un posible efecto uterocinético que presentan estos extractos.
3. El uso tradicional principalmente de plantas como *A. grandiflora* es de abortivo.

8.1. Apéndice.

a) Preparación de las soluciones de los extractos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* (200 mg / ml).

Los extractos metanólicos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* fueron proporcionados por la Sección de Síntesis Orgánica del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, UNAM.

Se pesaron 2 gramos del extracto metanólico de *A. littoralis*, se llevó a un matraz volumétrico de 10 ml, se disolvió el extracto y se aforó con metanol, obteniendo una concentración de 200 mg / ml.

Se realizó el mismo procedimiento para la realización del extracto metanólico de *A. grandiflora* (200 mg / ml).

b) Preparación de los extractos acuosos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*.

Extracción del material vegetal.

Se pesaron 10 gramos del material vegetal de cada una de las *Aristolochias* (*A. littoralis* y *A. grandiflora*), previamente seleccionados, desecados y fragmentados; se colocaron por separado en matraces Erlenmeyer de 250 ml, previamente identificados, se les agregó 200 ml de agua destilada a cada uno de ellos y se realizó una decocción por 5 minutos (extracción de los principios solubles al hervir el material vegetal con el disolvente), posteriormente se filtró para separar el material vegetal sólido, se procedió a concentrar a sequedad por destilación a presión reducida por rotaevaporador, finalmente se pesó la cantidad de extracto obtenida de cada uno (*A. littoralis* 3.9 gramos y de *A. grandiflora* 3.3 g).

c) Preparación de las soluciones de los extractos acuosos de *A. littoralis* y *A. grandiflora*.

Se pesaron alrededor de 2 gramos del extracto acuoso de *A. littoralis*, se llevó a un matraz volumétrico de 10 ml, se disolvió y se aforó con agua destilada, se obtuvo una concentración de 200 mg / ml.

Se realizó el mismo experimento para obtener la solución de extracto acuoso de *A. grandiflora* (200 mg / ml).

d) Preparación de formol al 10 %.

Se midieron 50 ml de formol con una probeta graduada de 100 ml, se transvaso a un vaso de precipitado de 500 ml y se le adiciono 450 ml de agua destilada, se mezcló perfectamente y se pasó a un frasco previamente lavado e identificado, obteniendose 500 ml de una solución de formol al 10 %.

9.1 Resumen.

En este trabajo se estudiaron dos *Aristolochias* presentes en nuestro país (*A. littoralis* y *A. grandiflora*), se realizaron dos experimentos, el primero para comprobar el posible efecto abortivo, para lo cual se contabilizó el número de crías obtenidos después de la administración de los extracto metanólicos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* a dosis única de 200 mg / kg, en diferentes días de gestación, sin embargo no fue posible determinar este efecto debido a la falta de controles confiables.

En el segundo experimento se probaron soluciones con extracto acuoso tanto de *A. littoralis* como de *A. grandiflora* a dosis de 200 mg / kg, en el cuál se realizó un estudio histopatológico para demostrar el posible efecto de estas dos especies en el útero, fué posible observar cambios histológicos importantes, pero no los suficientes para aseverar el efecto uterocinético que se estaba buscando.

Cabe mencionar que estos dos experimentos necesitan ser complementados con el mayor número posible de estudios que nos lleven a aseverar los efectos uterocinéticos y abortivos que se describen en la literatura (9,12 y 58), ya sea probando otras dosis, teniendo más controles y eliminando el mayor número de variables posibles que se tiene cuando se trabaja *in-vivo*, así como tener en cuenta los procesos de absorción, distribución, metabolismo, eliminación y las barreras fisiológicas presentes en el organismo que interfieren para la llegada del sitio de acción de los principios activos contenidos en los extracto de estas especies.

Todo esto es importante, ya que en un futuro a partir de estas especies es posible la extracción de principios activos de interés de beneficio humano, como son anticonceptivos, agentes uterocinéticos y abortivos.

10.1 BIBLIOGRAFIA:

1. Aguilar, F. F. Contribución al estudio fitoquímico de *A. littoralis*. Fac. Química. UNAM. 1993.
2. Angeles, L.T. Canlas, B.D. y col. Toxicity studies on aristolochic acid isolated from *Aristolochia tagala*, Cham. Acta Med. Philipp, 1979. 6(2):139-148.
3. Anzures, M. y Bolaños. La Medicina Tradicional en México. UNAM. México 1989.
4. Baker, E. J.; The Laboratory Rat. Vol. I. American College of Laboratory Animal Medicine Series. Academic Press. Inc. 1979.
5. Balaque, M. S. Diccionario Griego- Español. Compañía Bibliográfica Española. Madrid 1953.
6. Boletín informativo de Human Life International, 1994; 49:7. (Internet)
7. Bowman, W.C. ; Rand, M.J.; Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. Editorial Interamericana. 2ª Ed. 1984.. México, D.F.
- 7.a Bigsby, M.R. and Cunha, G.R. Effects of Progestins and Glucocorticoid on deoxyribonucleic Acid Synthesis in the Uterus of neonatal Mouse. The Endocrine Society Vol. 117, No. 6, Universidad de California 1985.
8. Bruce, D.W. Rat Dissection Manual. Ilustred by Geoffrey Stein, D.V.M.The Johns Hopkins University Press Baltimore & London.
9. Camacho, U. D.; Estudio Químico de *Aristolochia littoralis*. México D.F. 1990.
10. Castañeda, J. A. ¡Ojo con la entrada del aborto química en Latinoamérica!. Escode la Vida. Julio-agosto de 1993.
11. Castilla, S. L. y Cravioto, J. Estadística simplificada.Para la investigación en ciencias de la salud. Edit. Trillas. México, 1992.
12. -Chinchont, F. M. Estudio Químico Biológico de componentes del extracto metanólico de *A. littoralis*.Universidad de La Salle 1994.
13. Chun Tao, Ch.; Ahmed, M.S.; Kang, S.S.; Wellwe, D.; Bringel, A.; Martín, A. (1984): Isolation and biological evaluation of constituents of *A. indica* roots for fertility-regulation activity. J. nat. prod., 47 (2):331-41.
14. Chung, Y. and Tung, P. (1985). The mechanism of the analgesic action of the alkaloid of *Aristolochia Kweangsiensis*. Journal article, 10 (1): 38-41.

15. Department of Ecology and Evolutionary Biology at the University of Connecticut. Vines at San Marcos Growers. Ilustraciones de *A. littoralis*, *A. grandiflora* y familia Aristolochiaceae. (Internet)
16. Diaz, J. L. Usos de las Plantas Medicinales en México. Monografías Científicas. IMEPLAM, México. 1976.
17. Diaz, J.L. Índice y Sinónimos de las plantas Medicinales de México (Monografías Científicas I) IMEPLAM, México 1976.
18. Espejo, O; Camacho, D. Los guacos, un ejemplo del uso de la herbolaria en Medicina Tradicional. Cuernavaca 1987.
19. Font Quer, P. ; Plantas Medicinales (Dioscórides Renovado). 6ª Edición. Editorial Labor S.A. Barcelona, España, 1980.
20. Ganguly T. Pakrashi A. Pal A.K. Disruption of pregnancy in mouse by aristolic acid: I. Plausible explanation in relation to early pregnancy events. Contraception, 1986. Dec 34(6):625-637.
21. Ganong, F. Fisiología Médica. El Manual Moderno. 10ª Edición. México, 1986.
22. García, C. R., Pincus G. Hormonal Inhibition of ovulation. En Calderone Ms. Manual of Contraceptive Practice. Baltimore: Williams & Wilkins, 1964, 258.
23. Garibay, A. Nombres Nahuas en Libellus Medicinal. Ibus Herbos de Martín de la Cruz, IMSS. México, 1972.
24. Goodman, S.L.; Gilman, A. G. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Capítulo 65. 6ª Ed. México, D.F., 1984.
25. Greenhill. J. P.; Friedman, E.; Obstetricia. Ed. Interamericana, 1ª ed. México, D.F., 1977 pp. 360-384.
26. Herbario Nacional. Ciudad Universitaria. UNAM. México. (Fam.174. Género 2174. Folder G-F, No.1 y 2).
27. Hernández, F. Obras Completas Tomo IV. Historia Natural de Cayo Plinio II. Volumen 1. UNAM. Libro XXIV, 1960.
28. How, A. Y., Morisset, J. Aristolochic acid. Departamento de Medicine, Universite de Sherbrooke, Quebec. Canada. Am. J. Physiol (USA). Nov. 1996. 271(5 pt1): 1735-42.
29. Jack, A. Pritchard; Paul, C. Macdonald; Williams- Obstetricia. Editorial Salvat. ed. 1986. Cap. 24. pp 453-474.
30. Janice, G. Raymond; Klein, R. y Dumble, J. L. RU-486: Misconceptions, Mythis and Morals. Cambridge, Massachusetts, USA. Institute on Women and Technology, 1991, 9-24.

31. Lancet. Revista Médica. 21 de septiembre, 1991.
32. López, G. J. El farmacéutico en la elaboración, promoción y dispensación de abortivos. Departamento de Bioética, Universidad de Navarra, España. (Internet).
33. Louis, M. Hellman; Jacka Pritchard.; Obstetricia. 2ª Edición, México 1980 Ed. Salvat. pág. 474-497.
34. Maier, P.; Shawalder, H. P.; Weibel, S.B.; Zbinder, G. Aristolochic ac. induces 6-triogunin-reisistant mutants in an extrahepatic tissue in rats after oral application. Mutat. Res., 1985. 143 (3): 143-8
35. Marshaall, R. B; Ratner, H. Oral Contraceptives. The Medical evidence for covert abortion. Part II A.L.L. About Issues, 1986; Nov-Dec.:8
36. Martínez, M. Catálogo de nombre vulgares y científicos de la R. M. Fondo de Cultura Económica. México, 1979.
37. Martínez, M. Plantas Medicinales de México. Edit. Botas. México 1934 (De. 1969)
38. Martz, W. Plants with a reputation against snakebite. Toxicon. 1992. 30 (10):1131-42.
39. Meyers, F. H.; Manual de Farmacología Clínica. Ed. El manual Moderno México, D.F., 4ª Edición 1980. p.p 150-152
40. Mix, D. B., Guinaudeau, H. y Shamma, M. The Aristolochic acids and aristolactams. J. Nat. Prod., 1982. 45 (6): 657-66.
41. Munivalli, S. y Viel, C. Chemical, Taxonomic and Pharmacology study of Aristolochiaceae. Ann. Pharm. Fr., 1969. 7 (6): 449-64.
42. National Right to life News, 28 de octubre de 1991.
43. National Right to Life News, 9 de febrero de 1993.
44. O'Gorman, H. Plantas y flores de México. Dirección general de publicaciones. UNAM. México., 1963.
45. Pakrashi, A.; Chakrabarty, B. and Dasgupta A. Effec to the extracs from *Aristolochia indica* Linn. on interception in female mice. Experientia, 1976. Marz 15. 32(3):394-5.
46. Pakrashi, A. and Pakrasi, P. Antifertility efficacy of the plant *Aristolochia indica* linn on mouse. Contraception , 1979. Jul 20(1):49-54.
47. Pastorino, J.G. y Simbula, G. La citotoxicidad del tumor, necrosis, factor dependiente de la inducción en la permeabilidad de las membranas. J. Biol. Chem. (USA) Nov. 22. 1996. 271(47):29792-8.

48. Pakrashi, A. y Shaha, C. Effect of methyl ester of aristolochic acid from *Aristolochia indica* Linn. on fertility of female mice. *Experientia*, 1978. Sep 15. 34(9):1192-3.
49. Robert, B., M.D. Andrew J. Fletcher. And Co. El Manual Merck de diagnóstico y terapéutica. 8ª Edición Española 1989. Ediciones DOYMA.
50. Serrano, L. F. Aborto Legal. Comité Nacional provida A.C. 2da. Edición. México, 1983.
51. Sociedad Farmacéutica de México. Nueva Farmacopea Mexicana. Edit. Botas. México, 1952.
52. Spieler, J. Mise au point de méthodes immunologiques de régulation de la fécondité. *Bulletin de l'Organisation Mondiales de la Santé*, 1988, 66 (2):171-175.
53. Stanley, H.; Pine, Hendrickson B. J. & Col. Química Orgánica. Mc Graw Hill. 4ª edición México 1988.
54. Tatum, H.J, y Connell, E.B. A decade of intrauterine contraception: 1976 to 1986. *Fertility and Sterility*. 1986; 46(2):186.
55. -Tessier, C. y Rossini, G.P. The level of receptors PLA2 pancreatico is closely associated with the proliferation state uterine células stromal. *Laboratoire de Physiologie-Pharmacodynamie INSER V:352. INSA 406. de rat Villeurbanne France FEBS Cett.(Netherlands), Jul 29, 1996.390(3):311-4.*
56. -Ulman, Teutsch A. and Philibert, D.; RU-486. This controversial drug is now used widely in France to terminate unwanted pregnancies. Yet the compound was not invented for that purpose and actually has many possible applications. *Medicine/ June 1990.*
57. Vargas, R., J. F., "Posible efecto anticonceptivo y abortivo de los extractos de *A. littoralis* y *A. grandiflora* en ratas". Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Unidad Académica de Ciencias Químicas. 1995
58. Violon, C. Belgian (Chinese herb) nephropathy: why?*J.Pharm Belgs.* 1997 Jan-Feb. 52(1):7-27
59. Vishwanath, B.S.; Appu Rao; A.G. y Gowda, T.V. Interaction of phospholipase A2 from *Vipera russelli* venom with aristolochic acid a circular dichroism study. *Toxicon*, 1987. 25(9):939-46
60. Waynforth, H. B. Experimental and Surgical Technique inthe Rat. The Courtanid Institute of Biochemistry. The Middlesex Hospital Medical School, London. D.K. Academic Press. Hartcourt Brace Fovanovichi Publishers, 1988.