



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
CARRERA DE QUÍMICA FARMACEUTICO BIOLÓGICA**

**Evaluación del efecto de *Arctostaphylos pungens* en el  
peristaltismo intestinal y DL50 por vía de administración oral  
utilizando un modelo de ratones CD1.**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**EBER RODRÍGUEZ PÉREZ**



**Director: Dr. Rubén Marroquín Segura  
Asesor: Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara**

**MÉXICO, CDMX 2019**



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.

## ÍNDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Marco teórico .....	3
3.1 Plantas medicinales .....	3
3.2 <i>Arctostaphylos pungens</i> .....	4
3.3 Hábitat .....	5
3.4 Características botánicas .....	5
3.5 Usos medicinales .....	6
3.6 Tratamiento para la diarrea .....	6
3.7 Componentes químicos.....	7
3.7.1 Taninos .....	7
3.7.2 Ácido Gálico .....	8
3.7.3 Arbutina .....	8
3.8 Toxicidad .....	9
3.8.1 Dosis letal 50 (DL50).....	9
3.9 Motilidad intestinal.....	9
3.9.1 Intestino delgado .....	10
3.9.2 Intestino grueso .....	11
3.10 Diarrea.....	12
3.9.1 Factores de riesgo .....	14
3.10 Etiopatogenia.....	16
3.10.1 Diarrea del viajero .....	16
3.10.2 Diarrea persistente.....	16
3.10.3 Diarrea inflamatoria .....	17
3.10.4 Diarrea no inflamatoria .....	18
4. Modelo Experimental.....	19
4.1 Ventajas .....	19
4.2 Desventajas .....	20
5. Planteamiento del problema.....	21
6. Hipótesis .....	22

<b>7. Objetivo .....</b>	<b>23</b>
<b>7.1 Objetivo general .....</b>	<b>23</b>
<b>7.2 Objetivo específico .....</b>	<b>23</b>
<b>8. Diseño metodológico .....</b>	<b>24</b>
<b>8.1 Material.....</b>	<b>25</b>
<b>8.1.1 Equipo.....</b>	<b>25</b>
<b>8.1.2 Instrumentos .....</b>	<b>26</b>
<b>8.1.3 Material biológico.....</b>	<b>26</b>
<b>8.2 Reactivo y sustancias.....</b>	<b>26</b>
<b>8.3 Método .....</b>	<b>27</b>
<b>8.3.1 Obtención de extracto .....</b>	<b>27</b>
<b>8.3.2 Evaluación del efecto antidiarreico de motilidad intestinal en ratón.....</b>	<b>28</b>
<b>8.3.3 Determinación de Dosis letal 50 (DL50) .....</b>	<b>30</b>
<b>9. Resultados .....</b>	<b>35</b>
<b>9.1 Dosis letal 50 (DL50) .....</b>	<b>35</b>
<b>9.2 Modelo de motilidad intestinal en ratón .....</b>	<b>35</b>
<b>9.2.1 Resultados estadísticos del método de motilidad intestinal (Cuadro 1)....</b>	<b>44</b>
<b>9.2.2 Graficas de caja y bigote .....</b>	<b>47</b>
<b>10. Análisis de resultados.....</b>	<b>49</b>
<b>10.1 Dosis letal (DL50) .....</b>	<b>49</b>
<b>10.2 Evaluación del efecto antidiarreico de motilidad intestinal en ratón .....</b>	<b>50</b>
<b>11. Conclusiones .....</b>	<b>53</b>
<b>12. Perspectiva .....</b>	<b>54</b>
<b>13. Referencias .....</b>	<b>55</b>
<b>14. Anexos.....</b>	<b>61</b>

## **Agradecimientos**

**A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de realizar los estudios hasta terminar mi carrera profesional en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, con el apoyo de los docentes pertenecientes a esta gran institución formando parte de mi desarrollo académico**

**A mi director de tesis Dr. Rubén Marroquín Segura por su dedicación para apoyar a los alumnos, su amistad, por su enseñanza en el laboratorio, las risas por su excelente compañía y los versos compuestos por él. Gracias por ofrecerme su apoyo para la realización de esta tesis**

**A mi asesor el Dr. José Luis Mora Guevara por su característico humor, la humildad que tiene, la confianza que me brindo y el tiempo de trabajar en este proyecto con él, por los chistes y algunas historias geniales**

**A la Mtra. Yolanda Flores Cabrera que nos brindó de su tiempo para guiarnos en el trabajo, revisarnos y explicarnos amablemente las dudas. Por su apoyo y su amistad.**

**A mis sinodales el Dr. Valentín Islas Pérez y QFB Arturo Valle Mendiola por el tiempo invertido y correcciones para que esta tesis quedara terminada, por su dedicación a la docencia.**

## **Dedicatoria**

**A mi Madre Inés Pérez Cruz por darme el apoyo para terminar la carrera, por brindarme la fuerza siempre de ser alguien mejor, por escucharme cuando todo parecía perdido y por regañarme cuando me lo merecía, eres lo mejor que tengo y yo a ti te lo debo todo, gracias por ser un ejemplo a seguir y esforzarte por tus hijos. Te amo y siempre agradeceré tus enseñanzas.**

**A mi padre Agripino Rodríguez Pérez por sus consejos a pesar de la distancia, por su apoyo y comprensión. Te quiero papá**

**A mi hermano Edwin Rodríguez Pérez y compañero por la vida, por guiarme y ser un ejemplo a seguir, por ser una persona fuerte e inteligente, por apoyarme en las buenas y en las malas, por ser un pilar en mi vida y mejor amigo. Te quiero hermano.**

**A mis compañeros del Laboratorio 1, brindándome su amistad y consejos, por las risas y el bullying. Gracias Maestro Armando por invitarnos a comer, Gracias Maestro Trejo por visitarnos y ayudarnos siempre. Irvin, Ximena, Guillermo, Susana, Karen, Eddy, Dulce, Gerardo, Fanny, Kenny y Yadir gracias por su amistad y todas las aventuras vividas.**

## 1. Resumen

Se usaron ratones CD1 machos de 30 g de peso. Se calculó la DL 50 del extracto acuoso de *Arctostaphylos pungens* por el método de Lorke usando dosis de 5, 50, y 500 mg/kg de peso. Para evaluar el efecto del extracto sobre el peristaltismo intestinal, se formaron grupos de 6 animales con un ayuno de 16 horas, se les administró con sonda intragástrica un volumen alrededor de 0.2 mL de los siguientes compuestos. testigo negativo del ensayo (sólo excipiente), testigo positivo (Loperamida 2 mg/kg) y tres concentraciones del extracto (31.6, 100, 316 y 560 mg/kg), 30 minutos después se administró aceite de ricino (0.2 mL) y una suspensión carbón activado al 5 % como marcador de tránsito. Treinta minutos después se sacrificaron los animales y se les extrajo los intestinos (iniciando por el píloro y terminando en el recto) se midió el desplazamiento de la suspensión del carbón y se calculó la proporción de desplazamiento tomando como el 100% la distancia del píloro hasta el ano. Resultados\Conclusión: No se encontró actividad del extracto sobre el peristaltismo intestinal a las dosis 31.6, 100, 316 y 500 mg/kg de peso. La determinación de la DL 50 por el método de Lorke usando las siguientes concentraciones del extracto: 5, 50 y 500 mg/kg de peso no se presentó efecto letal al final del estudio.

## 2. Introducción

Las plantas medicinales han desempeñado un papel importante en el desarrollo de agentes terapéuticos a largo de la historia humana. Actualmente, se estima el 80% de las personas que viven en países en desarrollo aún dependen de la medicina tradicional para su atención primaria de salud, por lo tanto hay un aumento de consumo en las plantas medicinales en el mercado mundial, introduciéndose nuevas especies de plantas para diferentes usos terapéuticos y nutricionales que no han sido comprobadas farmacológicamente y que se venden a través de mercados convencionales, o sitios de internet no regulados por las autoridades sanitarias.

Las plantas medicinales que se usan con mayor frecuencia en la población son aquellas a las que se le atribuyen actividad antidiarreica por el conocimiento empírico, muchas de estas plantas no cuentan con estudios farmacológicos que comprueben el efecto terapéutico, sin embargo algunas de estas plantas tienen un menor efecto secundario que los medicamentos convencionales, la planta pingüica conocida comúnmente como “Manzanita”, es utilizada en varias regiones de México en el tratamiento de malestares estomacales, sin ser comprobada científicamente, por lo cual se evaluó la especie *Arctostaphylos pungens* (pingüica), obteniendo un extracto acuoso de la semilla para administrarse a diferentes dosis buscando realizar un estudio toxicológico para determinar la dosis letal 50 (DL50) por el método de Lorke, posteriormente se evaluó la motilidad intestinal con un modelo de ratones CD1 administrando un extracto acuoso de *Arctostaphylos pungens* por vía oral comprobando su efectividad farmacológica o descartando su uso como antidiarreico.

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Plantas medicinales

La atención primaria de salud de la población de países en desarrollo, se basan en la medicina tradicional, es un 80% por tradición cultural o porque no existen otras opciones. En los países ricos, muchas personas recurren a diversos tipos de remedios naturales porque consideran que “natural” es sinónimo de inocuo, la OMS apoya el uso de medicinas tradicionales y alternativas como plantas medicinales, cuando éstas han demostrado su utilidad para el paciente y representan un riesgo mínimo.<sup>1</sup>

Las plantas medicinales son aquellas que contienen en alguno de sus órganos, principios activos, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades de los seres vivos.<sup>2</sup>

A medida que aumenta el número de personas que utilizan medicinas tradicionales, también aumenta el número de reacciones adversas, ocasionando graves daños en la salud de las personas que las consumen, por lo que los gobiernos deben contar con instrumentos para garantizar la salud general de la población o mejores campañas que proporcionen información de los beneficios y riesgos que conlleva consumir remedios herbolarios.

Un ejemplo de plantas medicinales que se usan para tratamientos de enfermedades como infección de riñón y para la diarrea, es *Arctostaphylos pungens* (pingüica), ya que se maneja en establecimientos naturistas o por pedidos en internet.

### 3.2 *Arctostaphylos pungens*



Figura 1 Arbusto *Arctostaphylos pungens*



Figura 2 Hoja, tallo y semilla de *Arctostaphylos pungens*

**Nombres comunes:** Manzanilla, manzanita, tepesquite, madreSelva, madreño. (Fig. 1)

**Nombre Científico:** *Arctostaphylos pungens* (Fig. 2)

**Reino:** *Plantae*

**Phylum:** *Magnoliophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Orden:** *Ericales*

**Familia:** *Ericaceae*

**Género:** *Arctostaphylos*

**Epíteto específico:** *Pungens*<sup>3</sup>

### 3.3 Hábitat

Esta planta es originaria de América del norte, con un rango de distribución que va desde la región del sur de los Estados Unidos (California, Texas y Utah) hasta los estados de Oaxaca y Veracruz en México. Crece en altitudes desde los 1.750 hasta los 3.900 metros sobre el nivel del mar (msnm). Esta planta se encuentra en todas las zonas montañosas con clima semicálido, semiárido, templado<sup>4</sup>, y zonas frías de México, por ejemplo, en el estado de Tlaxcala es muy frecuente en Calpulalpan y Tlaxco pero su colecta irracional ha mermado sus poblaciones silvestres.<sup>5</sup>

### 3.4 Características botánicas

La planta se observa ramificada y con una corteza lisa de color café rojizo. Las hojas tienen un peciolo corto, punta redondeada, rígidas y de un color verde pálido, las flores, de color blanco o rosado, se encuentran acomodadas en racimos densos; los frutos carnosos y en forma de globo tienen una pulpa dulce y seca con alrededor de 10 semillas, son de color amarillo rojizo.<sup>6</sup>

Debe señalarse el costo de los frutos secos se venden a razón de \$80 el kilogramo (2018) en el mercado de la central de abastos de la Ciudad de México. En el mercado de Sonora (México, D.F) disponible en estado vegetativo seco solo los meses de enero y febrero, los meses siguientes se encuentra en estado fértil y fresco. Se venden manojos frescos, secos y frutos secos. Las hojas y los frutos secos se usan para curar enfermedades urinarias en infusiones.<sup>7</sup>

### 3.5 Usos medicinales

En el siglo XVI el uso medicinal de la semilla *Arctostaphylos pungens* en México, se utilizaba para tratar el asma,<sup>8</sup> en el siglo XX existen registros de su uso como diurético para tratar infecciones mucosas crónicas de la vejiga, cicatrizante en vías urinarias, cistitis, pielitis, metritis, también se menciona su uso en el tratamiento de diarrea, dolor de estómago, empacho, tos, leucorrea, prostatitis, reumatismo, hidropesía e inflamación. La Sociedad Farmacéutica de México la señala como diurética.<sup>9,10</sup>

### 3.6 Tratamiento para la diarrea

A continuación, se hablará sobre el uso de *Arctostaphylos pungens* (pingüica) como antidiarreico tradicionalmente, al usarse como un remedio herbolario y por su fácil adquisición, lo recomiendan usar por infusiones de las hojas o combinar sus semillas con los alimentos para lograr el efecto esperado, de acuerdo a lo anterior, en muchos casos se implementan medicamentos o productos milagros para controlar este padecimiento, de manera que se elevan sus precios moderadamente costosos, de modo que los vendedores no te aseguran los efectos de antidiarreicos al 100%.

Por consiguiente, los pacientes buscan alternativas de remedios herbolarios para tener resultados similares sin generar tantos gastos por el tratamiento, al ser de fácil adquisición y sin receta médica, los remedios herbolarios se consumen con mayor facilidad aun que no tienen investigaciones farmacológicas previas.

En la actualidad los hierberos recomiendan la semilla de *Arctostaphylos pungens* (pingüica) para tratar la diarrea, por su bajo costo y fácil adquisición, los padres de familia prefieren estos remedios herbolarios. El modo de preparación es lavar las

semillas de *Arctostaphylos pungens* (pingüica), ponerlas a remojar en agua limpia, por lo menos 12 horas, moliendo las semillas con el agua en que se remojaron. Verter en una jarra, utilizando un colador. Rellene con agua limpia y agregue azúcar, servir fría.<sup>11</sup>

### 3.7 Componentes químicos

En cuanto a los componentes químicos de la pingüica destacan sus frutos y hojas ya que contienen compuestos muy útiles en la medicina tradicional los cuales principalmente se atribuyen a la arbutina<sup>12</sup>, taninos, ácido gálico, flavonoides ya que estos compuestos son comunes en la familia *Ericáceas* y en el género *Arctostaphylos*,

#### 3.7.1 Taninos

Los taninos (Figura 3) son sustancias de clase polímeros fenólico de origen vegetal con propiedades antioxidantes, debido a su alto número de grupos hidroxilo y la capacidad de unirse a proteínas, así como propiedades defensivas adecuadas de la lignina. Los taninos se unen al colágeno de las pieles animales, aumentando su resistencia al calor, al agua y a los microbios.

Se utiliza frecuentemente como antidiarreico, para los tratamientos de heridas y quemaduras favoreciendo la cicatrización de las mismas.<sup>13</sup>

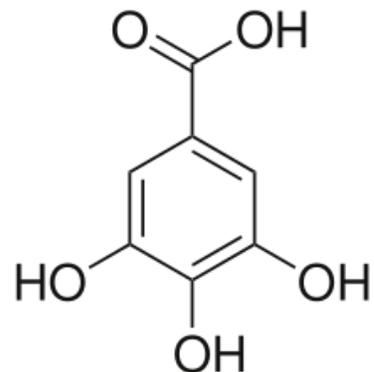


Figura 1 Estructura molecular de Taninos

### 3.7.2 Ácido Gálico

El compuesto ácido gálico (figura 4) son los curtientes más antiguos, hacen la piel resistente e imputrescible, convirtiéndola en cuero, derivados de taninos.

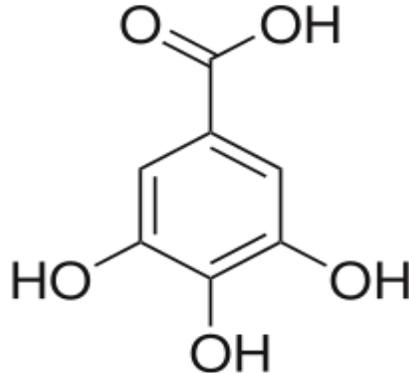


Figura 2 Estructura molecular del ácido gálico

### 3.7.3 Arbutina

Es un glucósido asilado de una determinada clase de moras, se emplea como diurético (medicamento que aumenta la producción de orina) y como antiséptico del tracto urinario, teniendo propiedades diuréticas y antiinflamatorias.<sup>10, 14</sup>

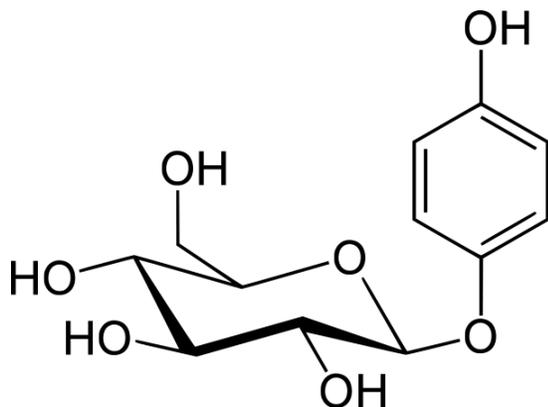


Figura 3 Estructura molecular de arbutina

### 3.8 Toxicidad

#### 3.8.1 Dosis letal 50 (DL50)

La Dosis Letal 50 hace referencia a aquella dosis de cualquier sustancia que causa la muerte del 50% de los animales de prueba. La DL50 es un valor virtual obtenido estadísticamente. Se trata de un valor calculado que representa la mejor estimación de la dosis requerida para producir la muerte en el 50% de los animales y, por lo tanto, siempre va acompañada de algunos tipos de estimación del error del valor hallado, tal como su intervalo de confianza.<sup>12</sup>

#### 3.9 Motilidad intestinal

La función digestiva y resortiva del tracto gastrointestinal depende esencialmente de la motricidad de la musculatura parietal, los patrones de motilidad más importantes son: el peristaltismo, la segmentación rítmica y la contracción tónica.<sup>13,14</sup>

El peristaltismo es el fenómeno por el cual se desplazan los alimentos en sentido descendente por el esófago conlleva la contracción y el relajamiento alterno de los músculos del esófago, la contracción de la musculatura circular se propaga en forma de ondas a través del tubo intestinal, precediendo casi siempre una onda de relajación. La mezcla del bolo alimenticio con los jugos digestivos se realiza por el peristaltismo no-propulsivo, que se propaga sólo por trayectos cortos, así como por movimientos de segmentación.<sup>15</sup>

La segmentación consiste en la contracción simultánea de la musculatura circular de regiones vecinas y alternantes. Como la frecuencia de las contracciones disminuye de arriba abajo, el contenido del intestino se desplaza también lentamente hacia el esfínter

anal por el peristaltismo no-propulsivo. Al mismo tiempo se garantiza así un transporte dirigido sin reflujo.<sup>16</sup>

### 3.9.1 Intestino delgado

El intestino delgado tiene una estructura tubular de 4 a 6 m de longitud, se divide macroscópicamente en duodeno, yeyuno e íleon, el calibre del intestino delgado disminuye distalmente de forma progresiva. El duodeno tiene una longitud aproximada de 20 a 25 cm y salvo los primeros centímetros está fijo alrededor del páncreas. Se continúa con el yeyuno para seguir con el íleon, que abarca los tres quintos distales del intestino delgado. Los tres segmentos tienen la misma estructura básica, con las cuatro capas comunes a todo el tubo digestivo, siendo la mucosa la más importante y especializada, dado que la función básica de este segmento digestivo es la absorción de los productos finales de la digestión.<sup>17,18</sup>

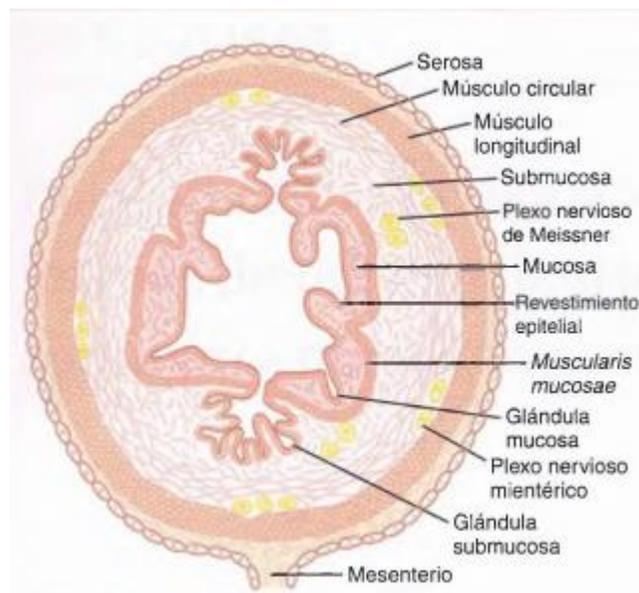


Figura 6. Corte de intestino

### 3.9.2 Intestino grueso

El intestino grueso se extiende desde el ciego hasta el ano, mide 1.4 a 1.8 m y su diámetro disminuye progresivamente.<sup>18</sup>

Su pared tiene una estructura más simple que el resto del tubo digestivo, su función principal es la reabsorción de agua, electrolitos y la eliminación final del contenido digestivo, la estructura histológica básica es similar a la del resto de segmentos del tubo digestivo, con la característica fundamental y diferenciadora de ausencia de vellosidades intestinales en la mucosa y formación de grandes pliegues. Del mismo modo, la *muscularis mucosae* del intestino grueso está más desarrollada que la del intestino delgado.<sup>19</sup>

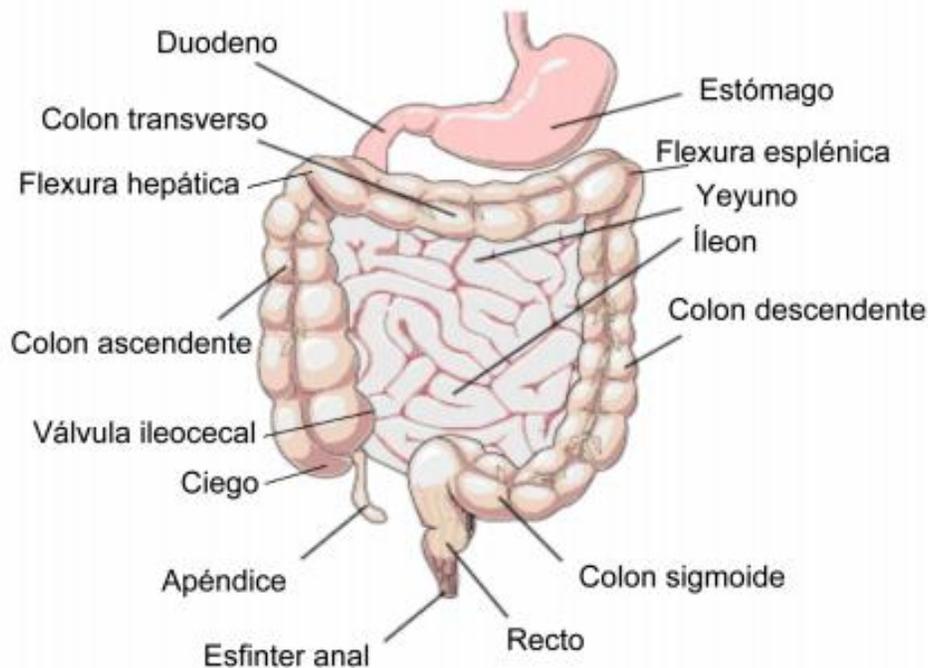


Figura 7. Intestino

### 3.10 Diarrea

Entre los usos más comunes de la planta pingüica (*Arctostaphylos pungens*) está el tratamiento antidiarreico, la diarrea se define como la deposición, tres o más veces al día (o una frecuencia mayor que la normal para la persona) de heces sueltas o líquidas.<sup>20</sup>

La diarrea suele ser un síntoma de una infección del tracto digestivo, que puede estar ocasionada por diversos organismos bacterianos, víricos y parásitos, la infección se transmite por alimentos o agua de consumo contaminada, o bien de una persona a otra como resultado de una higiene deficiente, las enfermedades diarreicas son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de cinco años. Son enfermedades prevenibles y tratables<sup>14</sup>, constituyen un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en desarrollo.<sup>21,22</sup>

Recordamos que por efecto de la diarrea se pierde agua, sodio, potasio y bicarbonato en concentraciones isotónicas e hipotónicas en relación con el plasma. Generalmente las diarreas se acompañan de vómitos, lo cual contribuye a agravar el cuadro incrementando las pérdidas de agua; en ocasiones los vómitos constituyen un mecanismo compensatorio a la acidosis metabólica, que ocurre por la pérdida intestinal de bicarbonato o por la pérdida renal de hidrogeniones.<sup>23</sup>

La deposición frecuente de heces firmes (de consistencia sólida) no es diarrea, ni tampoco la deposición de heces de consistencia suelta y “pastosa” por bebés amamantados.

Aunque existen múltiples causas que pueden ocasionarla, la mayoría tiene un origen infeccioso. Básicamente se considera que existen cuatro mecanismos implicados en la fisiopatología de la diarrea

- 1) Aumento de la osmolaridad del contenido luminal
- 2) Disminución de la absorción o aumento en la secreción intestinal
- 3) Alteraciones en la motilidad
- 4) Exudación de sangre, moco y proteínas (diarrea inflamatoria).

La mayoría de las infecciones del tracto gastrointestinal van a causar diarrea por un mecanismo secretor (bacterias enterotoxígenas) o inflamatorio (bacterias enteroinvasivas, *Entamoeba histolytica*). Las toxinas bacterianas se pueden clasificar en citotónicas (*Vibrio*, *E. coli* enterotoxigénico) y citotóxicas (*Shigella*, *E. coli* enterohemorrágico). Las primeras aumentan la secreción intestinal por activación de enzimas intracelulares sin producir daño en la superficie epitelial, mientras que las segundas inducen la secreción por daño directo sobre el enterocito. En ocasiones, puede existir una diarrea osmótica en relación con una mala absorción de disacáridos como consecuencia de una afectación de las vellosidades intestinales (*Giardia lamblia*)<sup>24</sup>

Los rotavirus son los agentes más importantes causando la diarrea (30%), por su asociación con la deshidratación (58%). Le siguen en importancia *Campylobacter spp.* (13%) y *Escherichia coli* (9%).<sup>25</sup>

### 3.9.1 Factores de riesgo

Los factores asociados a un mayor riesgo de enfermar e incluso de morir por enfermedades diarreicas en América Latina son la higiene personal deficiente, desnutrición proteico energética, ausencia o prácticas inapropiadas de lactancia materna, peso bajo al nacimiento, esquema de vacunación incompleto, falta de capacitación de la madre para la higiene familiar, madres adolescentes, contaminación fecal del agua y de alimentos, deficiencia de vitamina A.<sup>26,27,28</sup>

Las Enfermedades diarreicas agudas también pueden resultar del uso inadecuado de antibióticos, mala técnica alimentaría, intolerancia a disacáridos, alergia a las proteínas de la leche y otros padecimientos. Estudios realizados en el 2001 en Chile, México y Venezuela arrojaron que los agentes causales que los afectan generalmente se

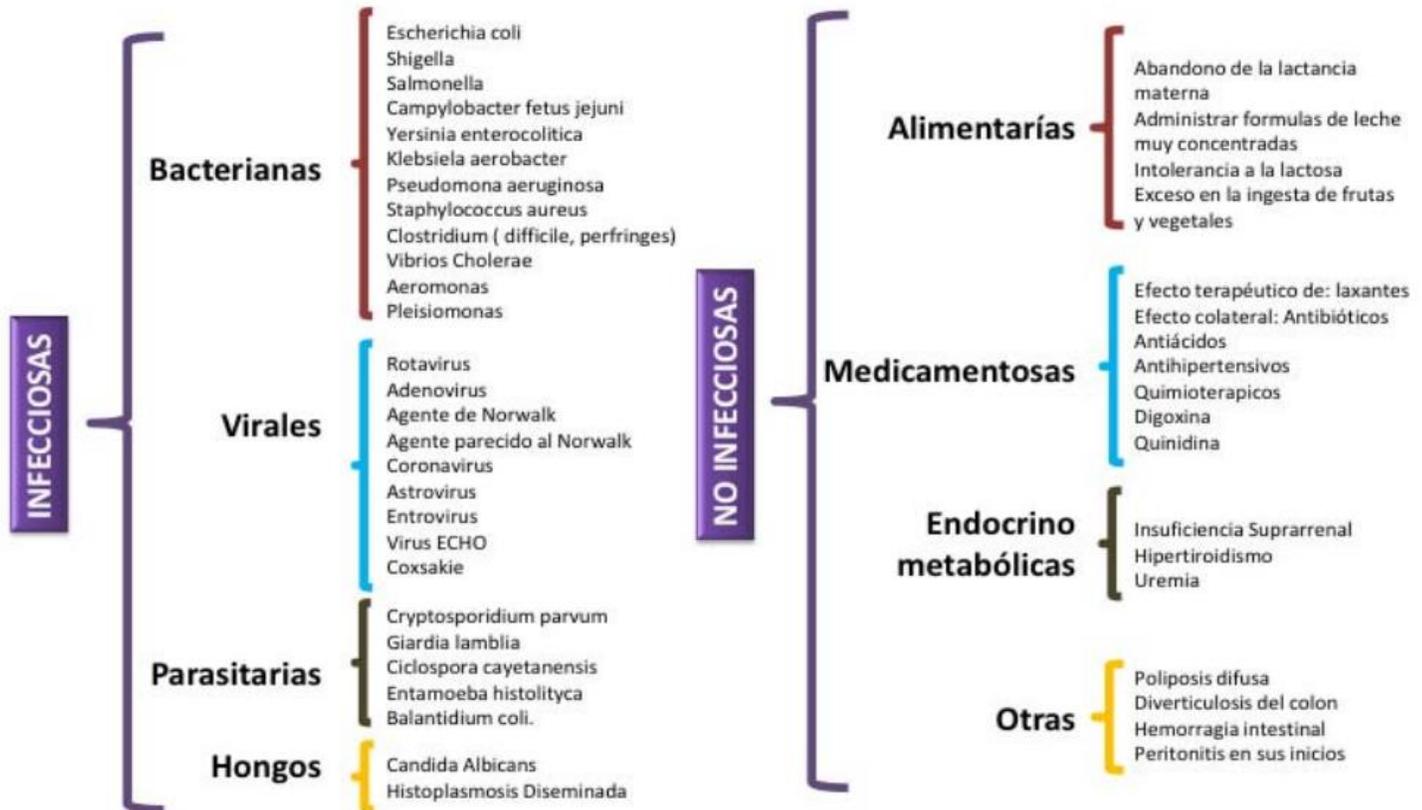


Figura 8 Etiología de la enfermedad diarreica

trasmiten por vía fecal-oral y adoptan diversas modalidades, dependen de los vehículos y las vías de transmisión.<sup>29</sup>

En Latinoamérica ocurren 15.282 muertes por rotavirus, (principal causante de la diarrea aguda) y 75.000 niños son hospitalizados anualmente, según información de la Organización Panamericana de la Salud (OPS).<sup>30,31,32</sup>

Destacando los factores de riesgo más comunes en este listado

- Higiene personal deficiente (lavado de manos)
- Desnutrición
- Viajes recientes a zonas endémicas
- Contaminación fecal del agua y de los alimentos
- Automedicación
- Antecedentes de ingesta de alimentos procedentes del mar
- Carne mal cocida
- Exposición previa a antibióticos
- Residencia en instituciones psiquiátricas, asilos, hospitales
- Intolerancia a la lactosa
- Ingesta de antibiótico por causas diferentes a la diarrea
- Uso de procinéticos, compuestos con magnesio, laxantes
- Diarrea crónica de causas diversas

### 3.10 Etiopatogenia

#### 3.10.1 Diarrea del viajero

La prevalencia de diarrea en turistas del mundo occidental que viajan por áreas subdesarrolladas o en vías de desarrollo se cifra en alrededor del 40%. En general, se trata de un proceso leve y autolimitado, pero puede tener ciertas consecuencias en pacientes con enfermedades de base, y no deja de ser un trastorno de notable magnitud al distorsionar un periodo vacacional o un viaje de trabajo. La mayoría de los episodios son producidos por cepas de *E. coli*, especialmente enterotoxígenas. Otros agentes implicados son las bacterias del genero de *Salmonella* y *Shigella* y parásitos como *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*. En todos los casos, la transmisión es fecal oral principalmente después de acudir a eventos al ingerir alimentos contaminados.<sup>33</sup>

#### 3.10.2 Diarrea persistente

La presencia de alguno de estos signos justifica la necesidad de llevar a cabo una investigación del agente etiológico y a menudo obliga a tratar al paciente en un medio hospitalario

- Intolerancia a líquidos por vómitos que no ceden a pesar del tratamiento antiemético.
- Dolor abdominal de intensidad relevante.
- Síntomas y signos de deshidratación grave.
- Alteración analítica o signos de complicaciones en las pruebas complementarias.
- Más de siete días a pesar de realizar un tratamiento adecuado

- Falla en el diagnóstico o en el tratamiento inicial
- Causas parasitarias: *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*
- Agentes del paciente inmunosuprimido: *Cryptosporidium sp*, *Microsporidium sp*, *Citomegalovirus*, *Salmonellas notifoídicas*
- Antecedente de egreso hospitalario
- Pacientes que requieren de cuidados especiales en casa, asilos u otros

### 3.10.3 Diarrea inflamatoria

Si el paciente presenta efectivamente una diarrea, se deberá evaluar su gravedad. Esta diarrea depende del estado inmunitario del paciente por lo cual conducen a un estado inflamatorio de la mucosa con exudación de moco, sangre y proteínas, así como presencia de leucocitos polimorfo nucleares en las heces. El carácter inflamatorio de la diarrea es importante por tres razones: 1) con frecuencia constituye un marcador de gravedad; 2) ayuda a localizar topográficamente el tramo intestinal afecto y 3) permite orientar el diagnóstico etiológico. Habitualmente la diarrea inflamatoria asienta en el colon y se acompaña de tenesmo rectal, sensación de urgencia defecatoria y dolor cólico en el abdomen inferior. Las heces, poco voluminosas, tienen un aspecto mucosanguíneo lento y el enfermo suele estar febril.

- Es causada por microorganismos que invaden la mucosa intestinal, como *E. coli enteroinvasora*, *Shigella sp*, *Salmonella sp*, *Campylobacter sp*.
- La presencia de moco y/o sangre sugieren fuertemente diarrea inflamatoria.
- Suele acompañarse de un estado tóxico infeccioso manifestado por fiebre mayor de 38° C, taquicardia o bradicardia, hipotensión arterial, deshidratación, dolor abdominal.

### 3.10.4 Diarrea no inflamatoria

Es importante diferenciar entre diarrea inflamatoria y no inflamatoria o acuosa (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de Diarrea inflamatoria y no inflamatoria

Diarrea	Inflamatoria	No inflamatoria
Aspecto de heces	Frecuente y poco voluminosa	Voluminosa
Dolor abdominal	Mucosanguíneas - Difuso	Acuosas
Fiebre	Frecuente	Mesogastrio / difuso
Sensación de urgencia	si	No
Dolor rectal	Colon	No
Localización preferente		Intestino delgado

- Es causada por microorganismos productores de toxinas: *E. coli enterotoxica*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *rotavirus*.
- El vómito fuera de proporción dentro del estado infeccioso se relaciona con la presencia de neurotoxinas.
- El periodo de incubación de la intoxicación alimentaria es de cuatro horas o menos; en la infección por rotavirus, es de ocho horas.
- Generalmente se auto limita y tiene una duración menor de tres días.<sup>34,35,36</sup>

#### 4. Modelo Experimental

Uno de los modelos más utilizados para ensayos de toxicidad son los ratones CD-1 (Fig. 9), que destacan entre los ratones de uso más común en la investigación. La apariencia de los ratones CD-1 es albina y su taxonomía es la siguiente.



**Clase:** *Mammalia*

**Orden:** *Rodentia*

**Suborden:** *Mioforma*

**Familia:** *Muridae*

**Subfamilia:** *Murinae*

**Género:** *Mus*

**Especie:** *Mus musculus*.<sup>37</sup>

Figura 9 Ratón CD1

##### 4.1 Ventajas

- De fácil cuidado y mantenimiento, por su pequeño tamaño.
- Bajos costo de manutención.
- Cepa definida.
- Diversidad de características específicas que sirven como modelo.
- Eficiencia reproductiva.
- Por su vida relativamente corta es excelente para su uso en ensayos crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología.

- Corto tiempo de generación.

#### **4.2 Desventajas**

- Dificultad en la recolección de material biológico.
- Dificultad la administración de fármacos.
- Dificultad en las técnicas quirúrgicas.<sup>38</sup>

## 5. Planteamiento del problema

La planta conocida como pingüica (*Arctostaphylos pungens*) es utilizada en la medicina tradicional mexicana, sola o en combinación con otras especies para tratar distintos padecimientos. Entre los usos más comunes para tratar la infección del tracto urinario, diarrea, inflamación, dolor de estómago y resfriado.

Sin embargo, no existen suficientes estudios científicos que demuestren la actividad del extracto sobre el tejido intestinal, ni su posible efecto antidiarreico. Al usarse la pingüica como un método tradicional para la diarrea, es importante conocer posibles efectos adversos que pongan en riesgo a la población que lo consume.

Es por esto que se llevará cabo un estudio de toxicidad (DL<sub>50</sub>) y un estudio de motilidad intestinal que permita conocer qué efectos tiene el consumo del extracto acuoso de pingüica (*Arctostaphylos pungens*) en el peristaltismo intestinal.

## 6. Hipótesis

Al administrar el extracto de la semilla *Arctostaphylos pungens*, se espera que al realizar la dosis letal 50 (DL50) del extracto acuoso de la pingüica no se encuentre una toxicidad alta y para el efecto antidiarreico la administración del extracto acuoso a diferentes dosis, se espera un cambio en la motilidad intestinal de los ratones CD1 al compararse con un fármaco de referencia.

## 7. Objetivo

### 7.1 Objetivo general

- Determinar el efecto peristáltico en ratones CD1 con diferentes dosis del extracto de *Arctostaphylos pungens* y determinar el grado de toxicidad de la pingüica.

### 7.2 Objetivo específico

- Obtener la planta *Arctostaphylos pungens*
- Obtener el extracto de *Arctostaphylos pungens*
- Determinar la DL50 del extracto de *Arctostaphylos pungens* a diferentes concentraciones mediante un método de ratones CD1
- Observar el efecto peristáltico al administrar el extracto de *Arctostaphylos pungens*, usando loperamida (Lomotil) como fármaco de referencia

## 8. Diseño metodológico

<b>Tipo de estudio</b>	Prospectivo, transversal, Experimental
<b>Población de estudio</b>	Ratones machos CD1 de 4 meses de edad
<b>Criterios de inclusión</b>	Ratones machos de 40 g $\pm$ 10 g, de 4 meses de edad
<b>Criterios de exclusión</b>	Ratones Hembra, Ratones Macho con un peso inferior a 30 g o mayor a 50 g.
<b>Criterios de eliminación</b>	Administrar oralmente el extracto erróneamente, muertes de ratón macho.
<b>Variables independientes</b>	Tratamiento peristáltico
<b>Variables dependientes</b>	Cambio peristáltico

## 8.1 Material

- Cinta métrica
- Espátula
- Estuche de disección
- Gradilla metálica
- Papel glassine
- Jaula para Roedor
- Marcadores indelebles (azul, rojo, negro)
- Rota vapor (Yamato)
- Jeringas para insulina (BD Ultra-Fine™)
- Cannula oral (Animal feeding needles, 20G, X1-11/2” Poper and sons, inc Newhyde park, NJ, USA)
- Pipetas automáticas (TIPOR-V<sup>+</sup>) de diferentes capacidades
- Pipetas graduadas (FALCON) de diferentes capacidades
- Puntillas para pipetas automáticas (Oxford labware)
- Tubos de ensayo 13x100 (Pyrex)
- Vasos precipitados (Pyrex) de diferentes capacidades
- Mortero y pistilo

### 8.1.1 Equipo

- Vórtex. (2-gene)
- Incubadora. (Shel Lab 36.7 °C)

### 8.1.2 Instrumentos

- Balanza analítica. (Adam)

### 8.1.3 Material biológico

- Ratones machos CD1

### 8.2 Reactivo y sustancias

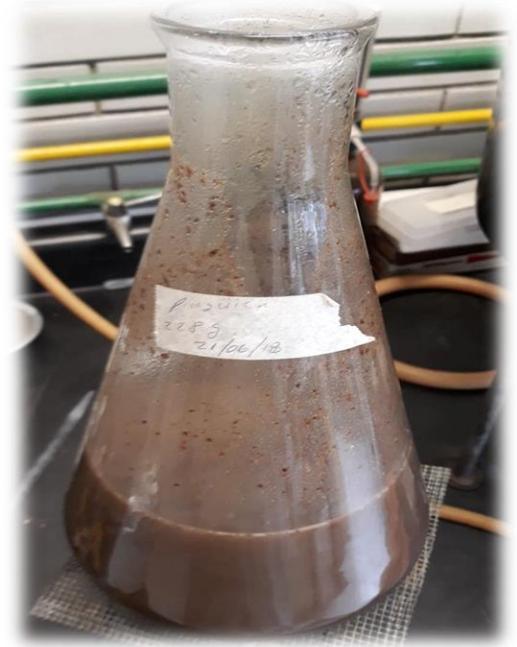
- Extracto de *Arctostaphylos pungens* a diferente concentración
- Goma Ghatti (Sigma de México, S.A).
- Carbón activado (Sigma de México, S.A).
- Clorhidrato de loperamida (Lomotil).
- Aceite de ricino (Ricitel).

## 8.3 Método

### 8.3.1 Obtención de extracto

Para la obtención del extracto acuoso de la semilla de *Arctostaphylos pungens*, se colocaron 250 g de la semilla en un molino y se colocó el polvo en un matraz Erlenmeyer de 2 L. Este se llenó con 1200 mL de agua destilada y se dejó reposar por 72 horas a una temperatura de 5 °C, el matraz se protegió con un tapón y se revisó periódicamente para volver a aforar a volumen cuando fuera necesario.

Una vez pasadas las 72 horas se filtró el extracto con un embudo y gasas, posteriormente se filtró con ayuda de un embudo Buchner y papel filtro de poro mediano conectado a una bomba para generar vacío, depositando el extracto a un matraz Kitasato, y se pasó aun matraz balón de 500 mL.



**Figura 10. Extracto de semilla de *Arctostaphylos pungens***

A continuación, se procedió a evaporar el extracto en rota vapor hasta obtener una pasta concentrada. Se almaceno en una Incubadora. (Shel Lab 36.7 °C).



Figura 11. Extracto acuoso de *Arctostaphylos pungens* evaporado a presión reducida en Rota vapor

### 8.3.2 Evaluación del efecto antidiarreico de motilidad intestinal en ratón.

Los ratones se mantuvieron en ayuno de 16 horas. Se formaron seis grupos de dos ratones cada uno. Al grupo uno se le administro vehículo, al grupo dos, Loperamida (5 mg/kg), a los grupos 3, 4, 5 y 6 las dosis de 31.6, 100, 316 y 560 mg/Kg del extracto de *Arctostaphylos pungens*, todos los tratamientos se administraron por vía oral.

Quince minutos después de la administración del tratamiento correspondiente a todos los grupos experimentales se les administro 0.2 mL de aceite de ricino seguido de una suspensión de Carbón activado al 5% en una solución de Goma Ghatti al 1%, 30 minutos después los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se extrajo cuidadosamente el tracto gastrointestinal de cada animal desde el píloro hasta el ciego.

Se determinó el recorrido que realizó el carbón activado en cada grupo experimental midiendo la distancia desde el píloro hasta la parte delantera del carbón activado, y la longitud total del intestino. Se calculó la motilidad intestinal de cada ratón, la cual se expresó como porcentaje.<sup>38</sup>

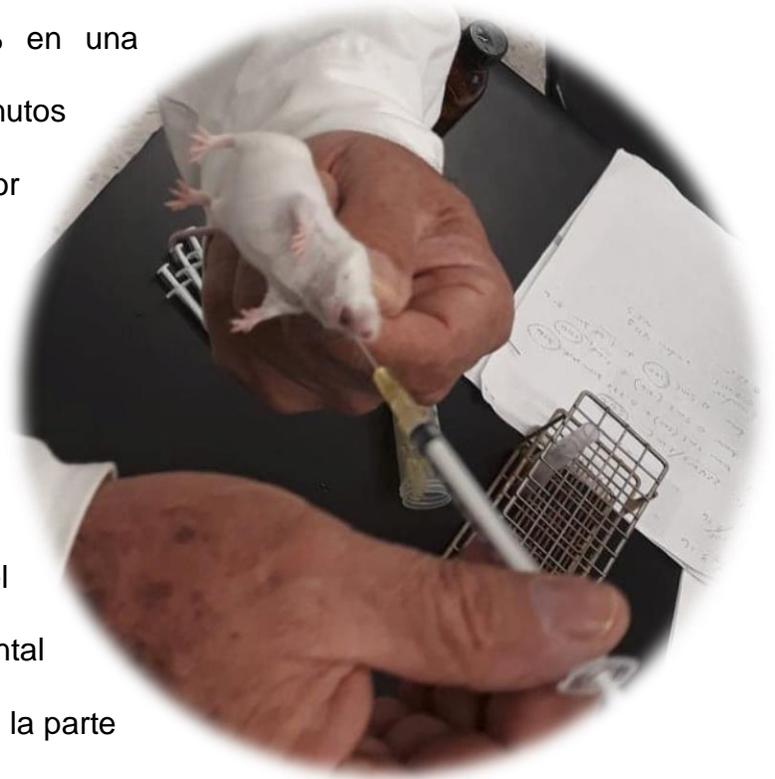


Figura 12. Administración oral a ratones CD1 con ayuda de Cannula oral (Animal feeding needles, 20G, X1-11/2" Poper and sons, inc Newhyde park, NJ, USA)

### 8.3.3 Determinación de Dosis letal 50 (DL50)

La determinación se realizó de acuerdo con el método de Lorke (1983)<sup>39</sup> en el cual se forman tres grupos de tres ratones a cada uno se le administró el extracto de *Arctostaphylos pungens* a dosis de 5, 50 y 500 mg/Kg respectivamente. Los animales se mantuvieron en observación y se fueron registrando todos los cambios en su comportamiento al igual que cambios físicos.



Figura 13. Obtención del peso de ratones CD1

Diagrama 1. Método para la prueba de dosis letal (DL 50)

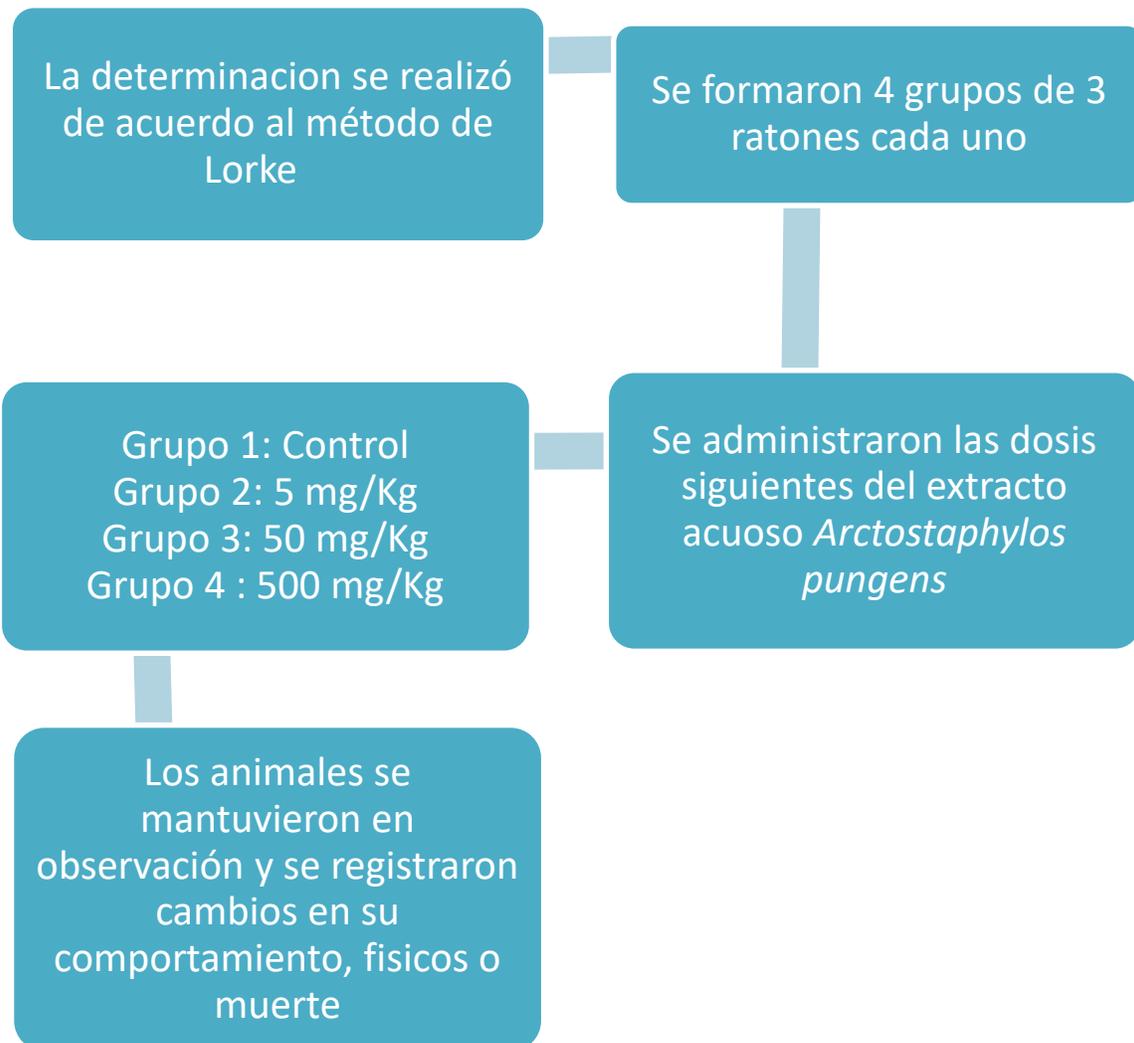
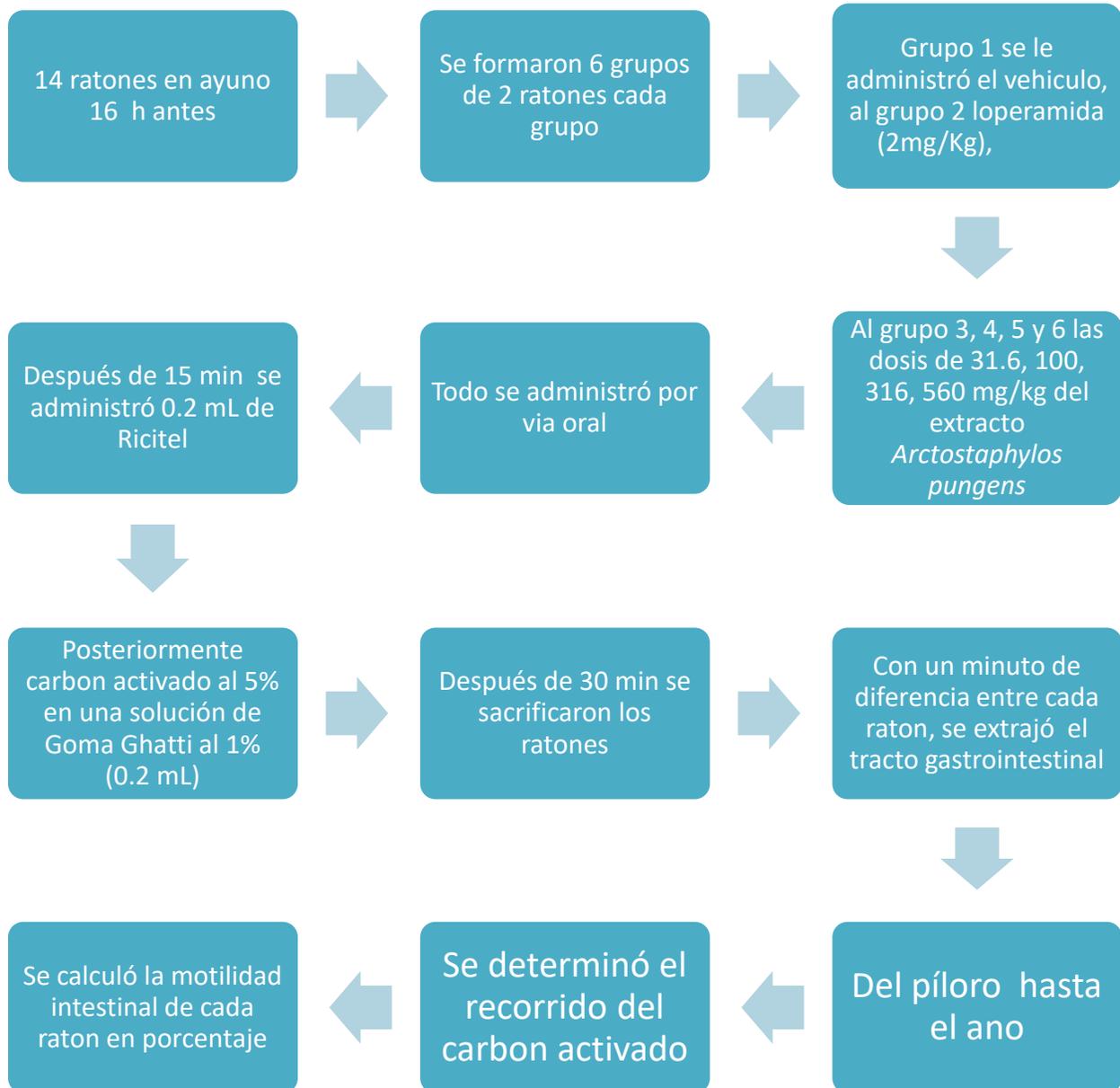


Diagrama 2. Evaluación de la motilidad



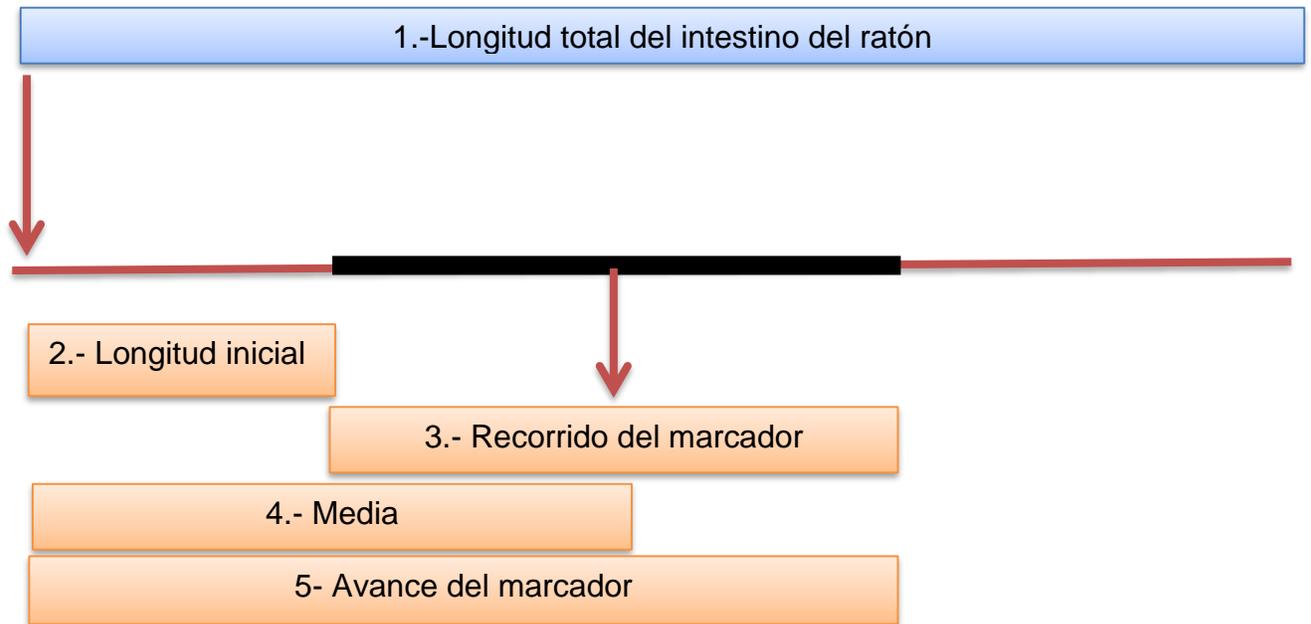


Diagrama 3. Medidas tomadas del intestino de ratón 30 minutos después de su administración.

### **Pasos a seguir para tomar medidas del intestino de ratón**

1. Longitud total del intestino : Se toma el intestino completo desde el píloro hasta el ano
2. Longitud inicial: es la medida desde el píloro hasta el inicio del marcador
3. Recorrido del marcador: es la medida en la cual el carbón activado a dejado su marca
4. Media: se toma desde el píloro hasta la mitad del recorrido del marcador
5. Avance total del marcador: medida desde el inicio del intestino, hasta el frente del marcador

Soluciones por grupo para la evaluación de la motilidad intestinal en ratón

- Grupo 1: Vehículo
- Grupo 2: Loperamida (2 mg/Kg)
- Grupo 3: Extracto acuoso, 31.6 mg/Kg
- Grupo 4: Extracto acuoso, 100 mg/Kg
- Grupo 5: Extracto acuoso, 316 mg/Kg
- Grupo 6: Extracto acuoso, 560 mg/Kg

## 9. Resultados

### 9.1 Dosis letal 50 (DL50)

El ensayo se realizó como en el método de Lorke<sup>39</sup>, en el cual se utilizaron tres grupos de tres ratones cada grupo, se administró por vía oral las concentraciones de 5, 50, 500 mg del extracto acuoso por Kg de peso. Y un grupo testigo negativo al que sólo se le administró 0.2 mL goma Ghatti. En el primer día, no se observaron muertes ni cambios en el comportamiento durante el ensayo.

Al finalizar los 15 días de observación (como marca el método) no presentaron inflamación de abdomen, ni variación en peso, y al comparar con el grupo de testigo negativo no tuvo alteraciones en su comportamiento ninguno de los grupos de ratones tratados.

### 9.2 Modelo de motilidad intestinal en ratón

A continuación, se muestran fotografías de la motilidad intestinal de ratones con concentraciones del extracto acuoso de *Arctostaphylos pungens*. La quinta imagen se observa el intestino de los grupos de controles de los ratones de cada prueba desde el píloro hasta el ano.



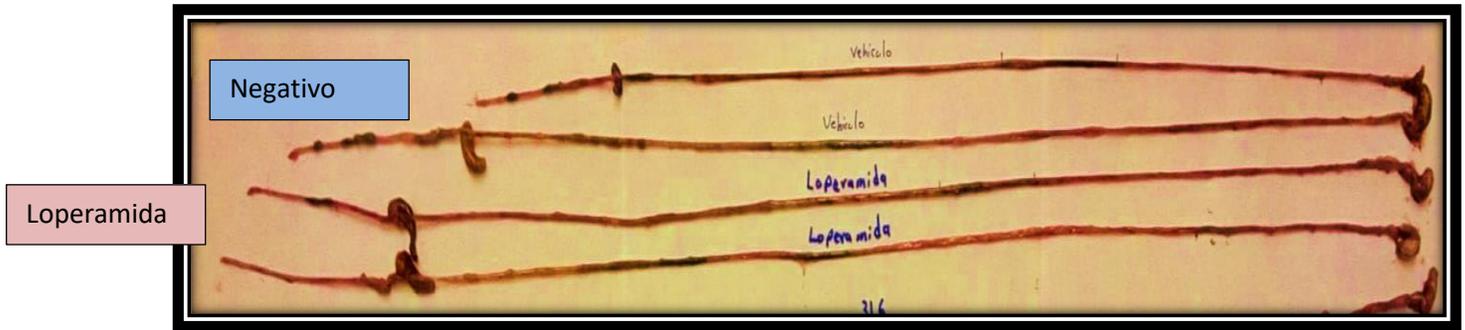
**Figura 14.** Se observan el intestino de ratón de los grupos de control positivo, negativo, y la concentración más baja del extracto de 31.6 mg/kg del primer estudio. (de derecha a izquierda, píloro hasta ano).

En la Figura 14. es el primer ensayo, se observan los intestinos de ratón del grupo control, los primeros dos corresponden a ratones tratados con aceite de ricino marcando zonas negras por el carbón activado a lo largo del intestino, seguido de la concentración más baja del extracto 31.6 mg/kg presentando zonas oscuras pequeñas de carbón activado, y por último el control positivo (Loperamida) donde no tiene recorrido del marcador de carbón activado, quedando en el estómago.



**Figura 15.** Se observan el intestino de ratón de los grupos de control positivo, negativo. (de derecha a izquierda, píloro hasta ano).

En la Figura 15 del segundo ensayo, se observan intestinos de los grupos control, los primeros dos corresponden a ratones tratados con aceite de ricino observando zonas oscuras en todo su recorrido, seguido del control positivo (Loperamida) donde se apreció una zona oscura en el primer intestino de Loperamida.



**Figura 16.** Se observan el intestino de ratón de los grupos de control positivo y negativo del tercer estudio realizado. (De derecha a izquierda, píloro hasta ano).

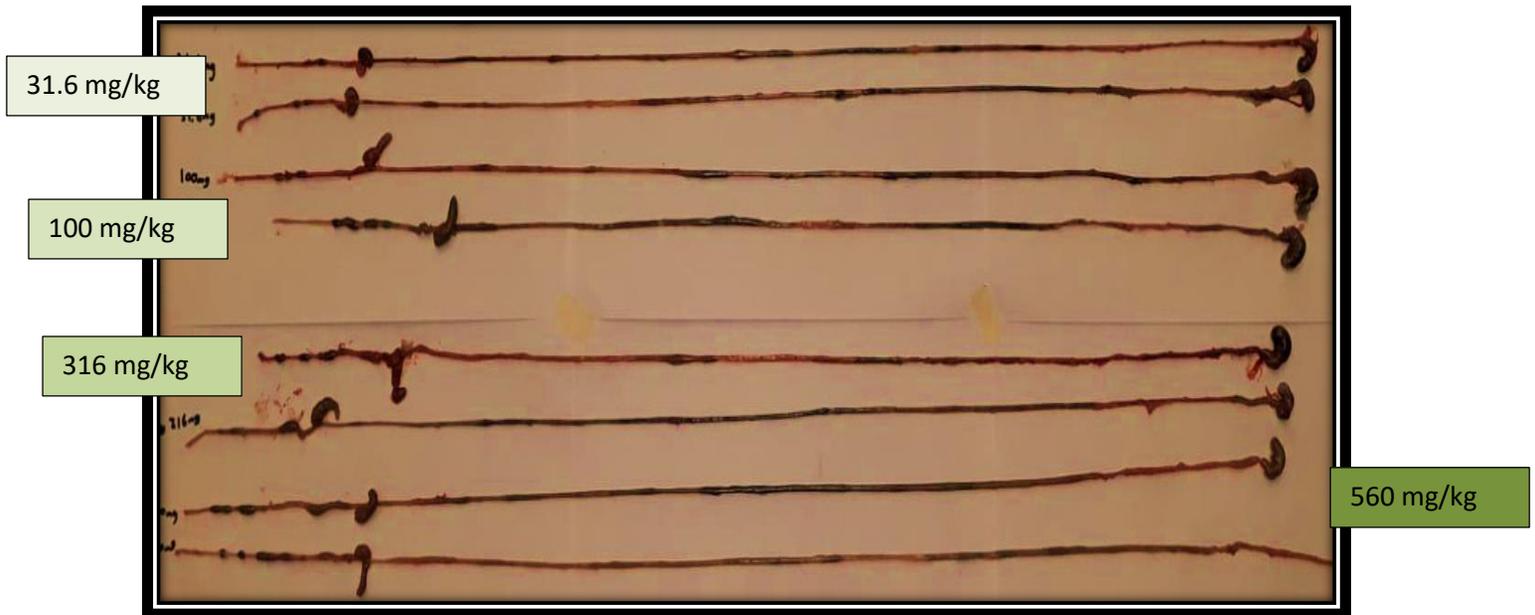
En la Figura 16. Del tercer ensayo, se observan los grupos control, los primeros dos corresponden a ratones tratados con aceite de ricino, seguido del control positivo con Loperamida. Las zonas que están de color negro se marca por el carbón activado teniendo motilidad, esto es de acuerdo a lo administrado al ratón. De igual manera se aprecia un recorrido de una pequeña zona oscura por el carbón activado en el primer intestino de la dosis de Loperamida.



**Figura 17.** Se observa el intestino de ratón de los grupos de las dosis más bajas estudiadas del tercer estudio realizado. (31.6 mg/kg y 100 mg/kg).

En la Figura 17. El cuarto ensayo, se observa primero los dos intestinos de los ratones tratados con dosis 31.6 mg/kg, los dos intestinos siguientes corresponden al tratamiento con 100 mg/kg.

Se puede observar que en la dosis de 31.6 mg/kg no se tiene efecto de retención del contenido intestinal, lo que también es apreciable para el tratamiento de la dosis de 100 mg/kg un recorrido muy extenso en el intestino del marcador.



**Figura 18.** Se observan el intestino de ratón de los grupos problema 31.6 mg/kg, 100 mg/kg, 316 mg/kg y 560 mg/kg del cuarto estudio realizado. (De derecha a izquierda, píloro hasta ano).

En la Figura 18. El quinto ensayo, Se observan los intestinos llenos de zonas oscuras, excepto por el último intestino de la dosis 560 mg/kg que se ve casi limpio desde el píloro hasta el ano, evidenciando mayor actividad de inhibición del peristaltismo. Esto podría darnos una ligera sospecha. Mientras va aumentando la dosis del extracto, el avance del marcador de carbón activado va disminuyendo.



**Figura 19.** Se observan el intestino de ratón de todo el estudio del quinto estudio realizado. (De derecha a izquierda, píloro hasta ano).

En la Figura 19. Se observan los intestinos de ratón del sexto estudio, los primeros dos intestinos pertenecen al control negativo donde se ven zonas oscuras por el recorrido del carbón activado quedando vacío el estómago y al final del intestino con heces color negro, demostrando una motilidad intestinal. En los siguientes dos intestinos pertenece a Loperamida donde se observa el estómago negro, aun que se observa en el primer intestino con muchas zonas negras y en el segundo esta casi limpio, sin zonas negras al final del intestino. De los siguientes intestinos se observan zonas oscuras por el carbón activo con las diferentes dosis administradas, excepto la dosis 31.6mg/kg y 560 mg/kg donde el primer intestino esta casi limpio presentando mínimas zonas oscuras.



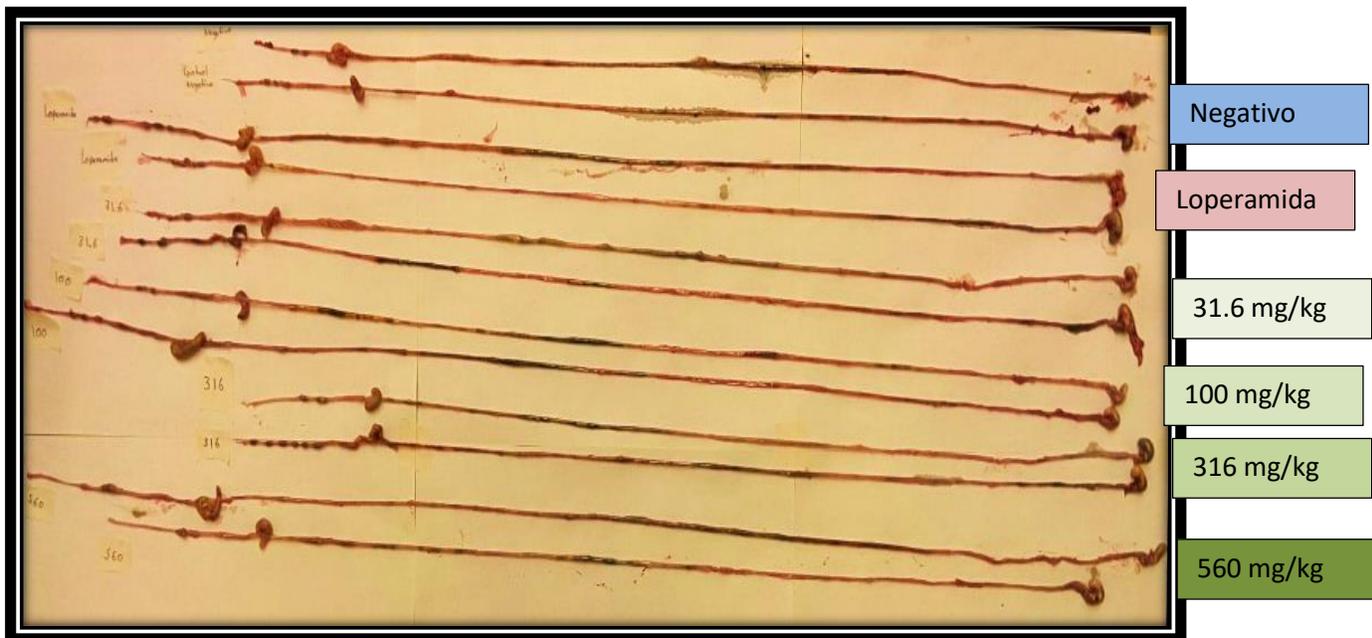
**Figura 20.** Se observa el intestino de ratón de los grupos del vehículo y Loperamida. (De derecha a izquierda, píloro hasta ano).

Figura 20. Se repitió Loperamida y vehículos, ya que en los anteriores ensayos se presentaban zonas oscuras en Loperamida, en esta imagen se observa un mínimo recorrido del carbón activo en Loperamida y un gran avance del control negativo de los intestinos administrados. Obteniendo un contraste entre los controles del ensayo.

En las Figuras ( 21 hasta la 26) permiten visualizar el grupo completo de trabajo por sesión, se muestra la longitud total de los intestinos (desde el píloro hasta el esfínter anal) agrupándose primero los grupos control (vehículo y loperamida) seguido de las diferentes dosis empleadas, desde la dosis menor, hasta la mayor (31.6 mg/kg, 100 mg/kg, 316 mg/kg y 560 mg/kg). Al tener los grupos completos los diferentes tratamientos es posible realizar la comparación de recorridos respecto a sus grupos control, y así identificar los diferentes efectos que se tienen sobre el peristaltismo de acuerdo con la solución administrada.



**Figura 21.** Se muestran los intestinos de ratón de todos los grupos administrados en la primera parte del estudio (izquierda a derecha, ano hasta píloro)



**Figura 22.** Se muestran los intestinos de ratón de todos los grupos administrados en la primera parte del estudio (izquierda a derecha, ano hasta píloro)

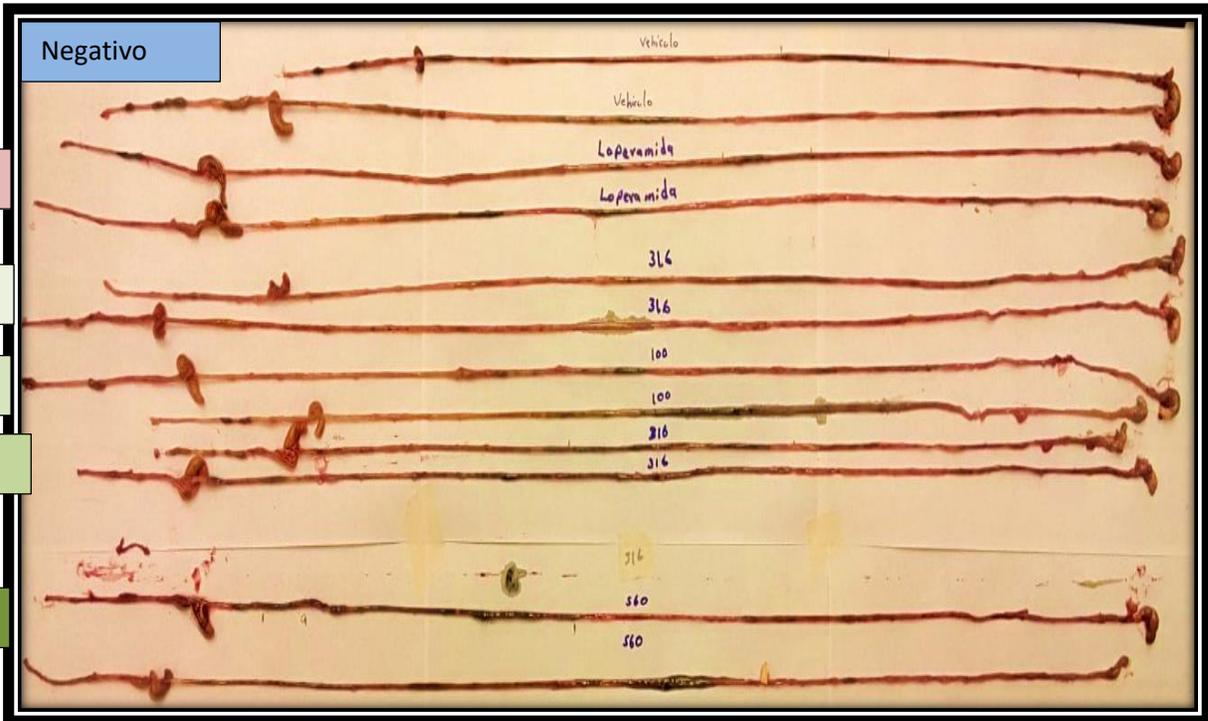


Figura 23. Se muestran los intestinos de ratón de todos los grupos administrados en la primera parte del estudio (izquierda a derecha, ano hasta píloro)

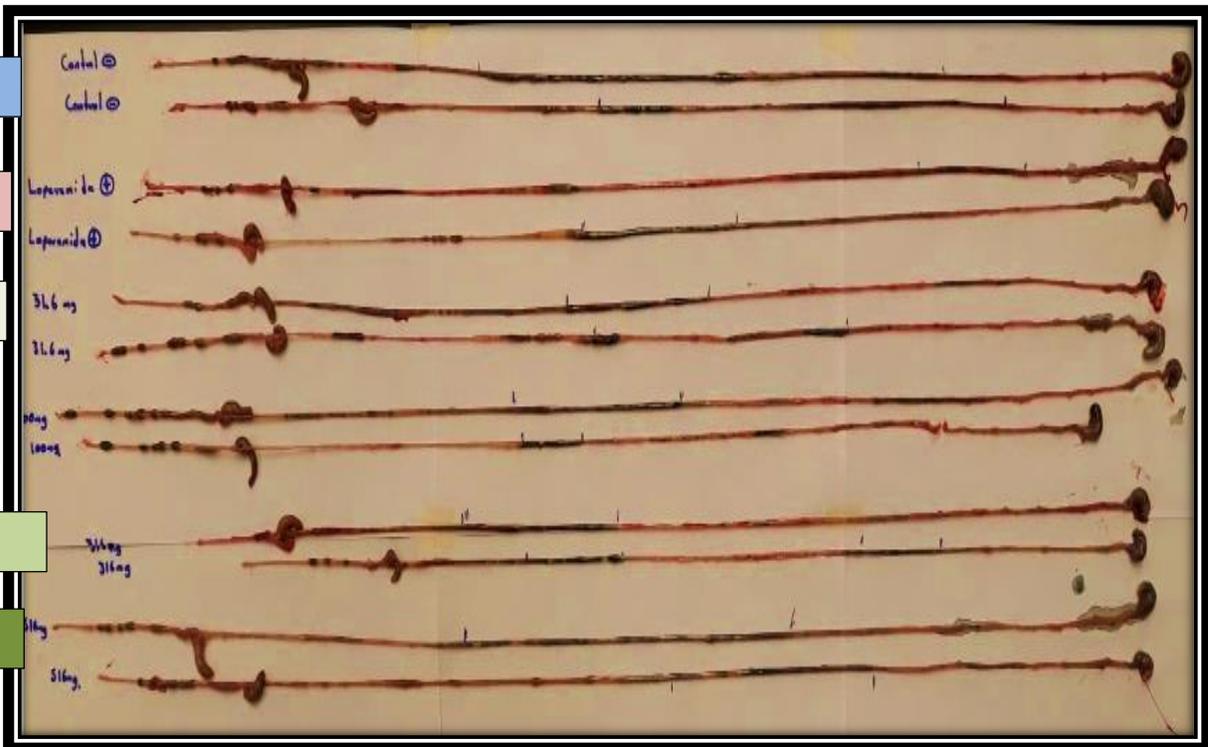
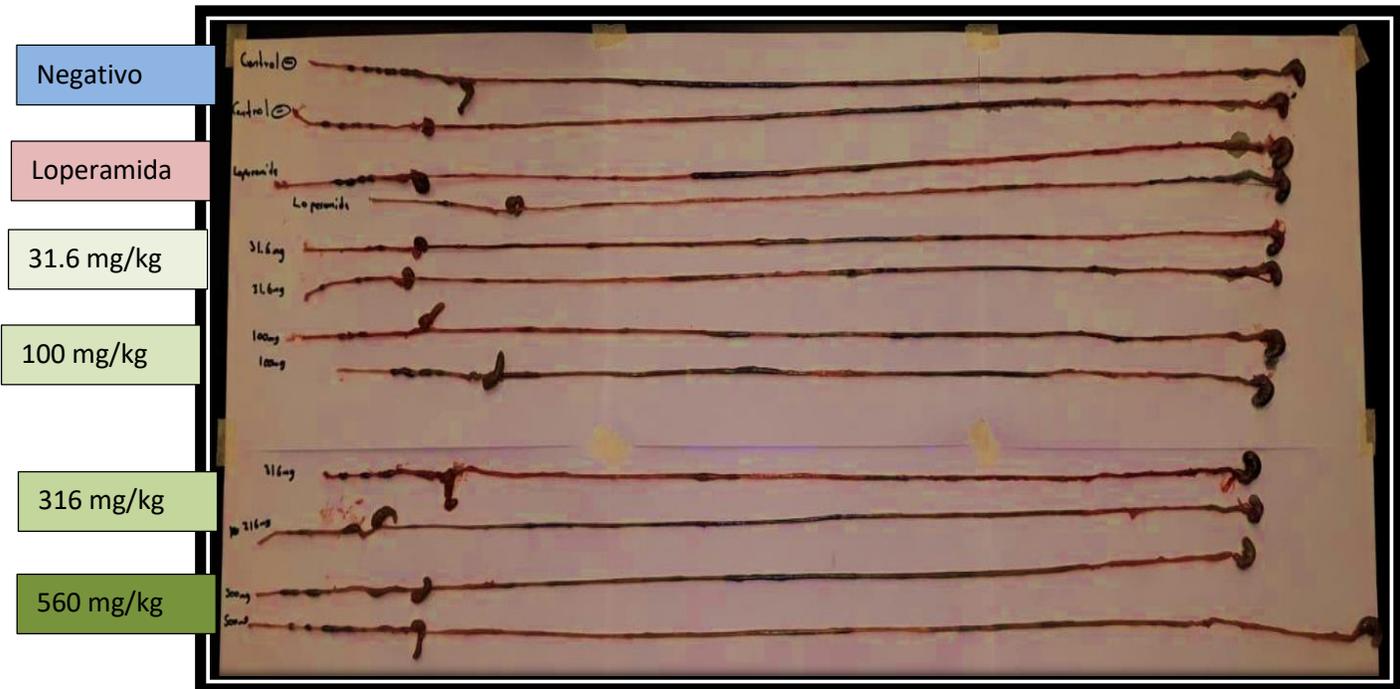
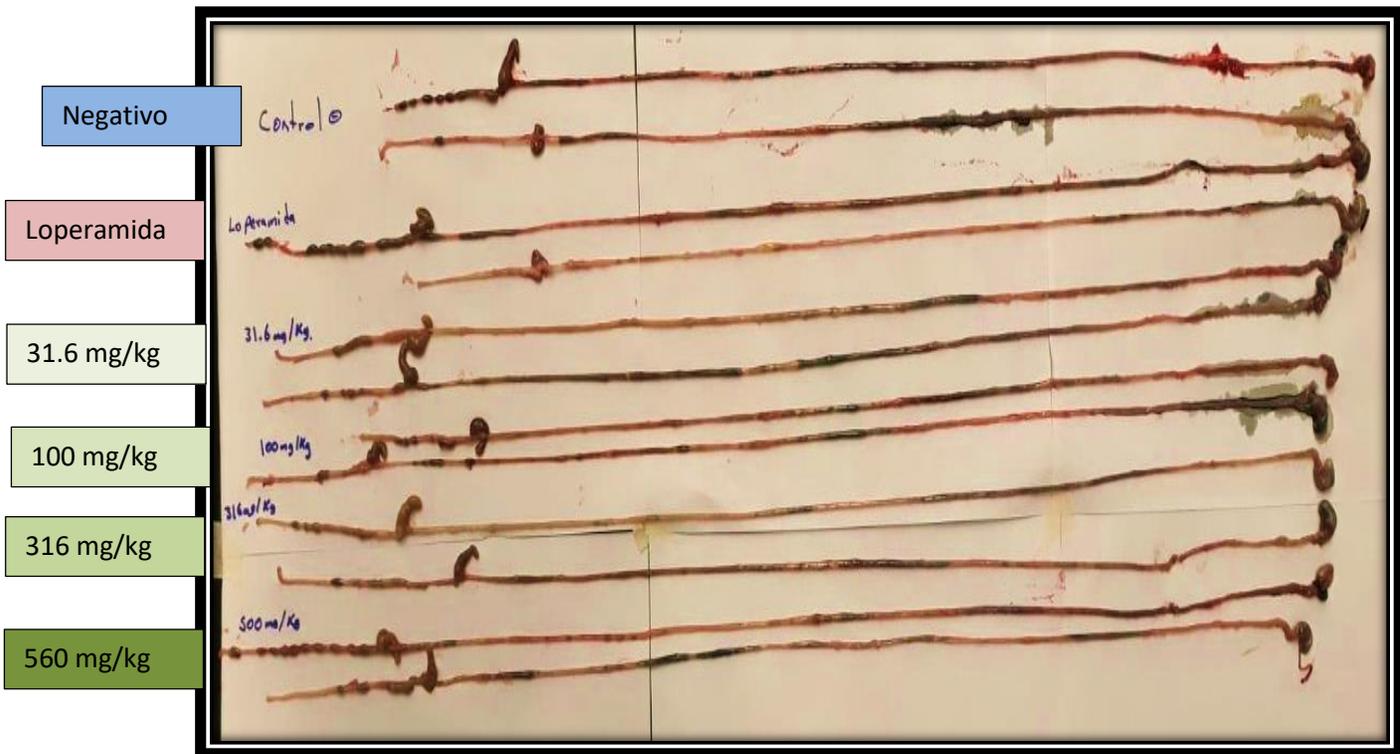


Figura 24. Se muestran los intestinos de ratón de todos los grupos administrados en la primera parte del estudio (izquierda a derecha, ano hasta píloro)



**Figura 25.** Se muestran los intestinos de ratón de todos los grupos administrados en la primera parte del estudio (izquierda a derecha, ano hasta píloro)



**Figura 26.** Se muestran los intestinos de ratón de todos los grupos administrados en la primera parte del estudio (izquierda a derecha, ano hasta píloro)

### 9.2.1 Resultados estadísticos del método de motilidad intestinal (Cuadro 1)

Al obtenerse todas las medidas en centímetros como indica el método, se utilizó el programa SPSS versión 21 para el análisis estadístico.

**ANOVA de un factor SPSS (cm)**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
longitudtotal	Entre grupos	119.143	5	23.829	1.039	.401
	Dentro de grupos	1650.591	72	22.925		
	Total	1769.734	77			
longitudinicial	Entre grupos	1651.650	5	330.330	3.648	.005
	Dentro de grupos	6518.917	72	90.541		
	Total	8170.567	77			
recorridodelmarcador	Entre grupos	330.855	5	66.171	1.054	.393
	Dentro de grupos	4519.000	72	62.764		
	Total	4849.855	77			
promedio	Entre grupos	1997.211	5	399.442	5.365	.000
	Dentro de grupos	5360.686	72	74.454		
	Total	7357.897	77			
avancetotaldelmarcador	Entre grupos	2469.372	5	493.874	5.440	.000
	Dentro de grupos	6536.181	72	90.780		
	Total	9005.553	77			

**Cuadro 1.** Análisis de varianza para los grupos Promedio, Avance total, Longitud inicial, Recorrido del marcador y Avance total del marcador (cm),  $p < 0.1$  muestra que hay diferencia significativa.

Al obtenerse todos los datos que indica el método se recopilaron en la base de datos del programa, realizando una prueba de ANOVA de un factor (cuadro 1) para las siguientes variables: promedio, avance total, longitud inicial, recorrido del marcador y avance total del marcador, donde se encontró que existen diferencias significativas al 90% de confianza para las variables Longitud inicial, Promedio y Avance total del marcador.

Dado que el análisis de varianza (ANOVA) confirma la existencia de diferencias significativas para dos variables (Promedio y Avance total del marcador), se

rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) de igualdad de medias para todos los grupos y se acepta la hipótesis alterna ( $H_1$ ) que dice que existen al menos dos diferencias de medias entre los grupos. Se realizó una búsqueda para determinar que medias son distintas. Esto se realizó por el método HSD de Tukey.

**Promedio (cm)**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.1	
		1	2
Loperamida	16	19.1781	
31.6 mg/Kg	13		30.0038
500 mg/Kg	10		30.2050
Vehiculo	15		30.6100
100 mg/Kg	13		32.4731
316 mg/Kg	11		33.5955
Sig.		1.000	.900

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12.660.
- b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

**Cuadro 2.** Comparación de medias de la variable del promedio

El cuadro 2 muestra que para la variable promedio se tiene que la Loperamida se encuentran en el primer subconjunto con una  $p = 1,000$ , siendo diferente a las demás dosis trabajadas. En el segundo subconjunto se muestran los grupos de 3.16 mg/kg, 560 mg/kg, Vehiculo, 100 mg/kg y 316 mg/kg, donde se observó que sus medias tampoco eran significativamente diferentes entre sí, ( $p=0,900$ ).

## Avance total del marcador (cm)

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.1	
		1	2
Loperamida	16	24.9250	
100 mg/Kg	13		37.4077
31.6 mg/Kg	13		37.4231
Vehiculo	15		38.5133
500 mg/Kg	10		38.5200
316 mg/Kg	11		41.2364
Sig.		1.000	.913

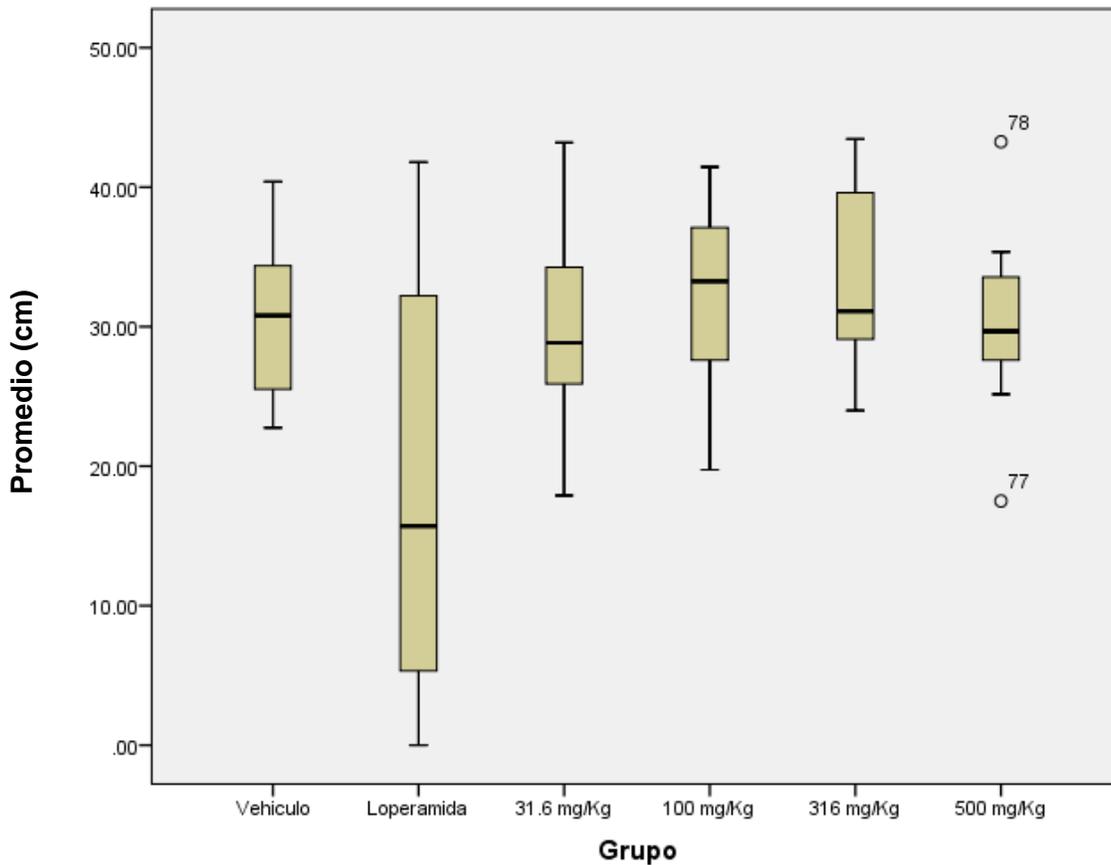
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12.660.
- Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

**Cuadro 3.** Comparación de la variable del avance total del marcador

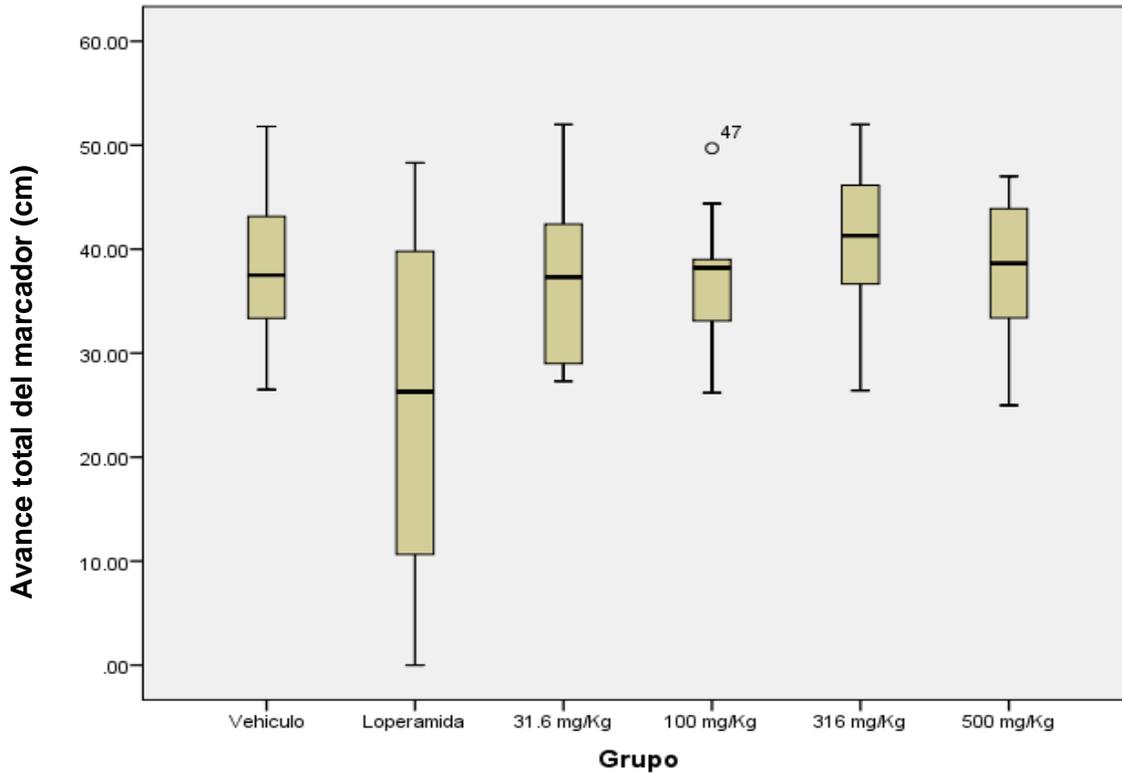
En esta prueba post hoc de la variable total del marcador podemos observar que los grupos de Loperamida está en el primer subconjunto, el cual tiene una  $p=1,000$  siendo diferente a las demás dosis de 100 mg/kg, 31.6 mg/kg, vehículo, 560 mg/kg y 316 mg/kg. El segundo subconjunto agrupa a 100 mg/kg, 31.6 mg/kg, vehículo, 560 mg/kg y 316 mg/kg donde tampoco se observaron diferencias significativas ( $p = 0,913$ ).

### 9.2.2 Graficas de caja y bigote



Graficas 1. Representación en caja y bigote para cada categoría de la variable grupo, cada una de las cuales tiene su gráfico en relación con datos Promedio. En el gráfico 1 de caja y bigote en el que se comparan seis categorías de una variable (grupo); mostrando la distribución por promedio en centímetros de los recorridos del marcador (carbón activado). Puede observarse que para los grupos control (vehículo, Loperamida) la Loperamida presenta una amplia distribución en cm, comparado con el vehículo que presenta un avance mayor con menos distribución del promedio. De los grupos de diferentes dosis del extracto de la gráfica 1, se puede observar que las variables de las dosis presentan valores más

cercanos al grupo control del Vehículo. Se observan de la gráfica 1, dos valores fuera de rango (78 y 77) para el grupo de 500 mg/kg.



Gráfica 2. Representación en caja y bigote para cada categoría de la variable grupo, cada una de las cuales tiene su gráfico en relación con datos del avance del marcador.

El gráfico 2 de caja y bigotes presenta la comparación de seis categorías de una variable (grupo); mostrando la distribución por promedio en centímetros de los recorridos del marcador (carbón activado). Puede observarse que Loperamida presenta un menor avance del marcador, mientras que el grupo Vehículo presenta una mayor distribución de datos, junto con las demás dosis del extracto muy parecidas al Vehículo (control negativo)

## 10. Análisis de resultados

En el presente estudio se evaluó el uso del extracto acuoso de semilla de pingüica (*Arctostaphylos pungens*) poseyendo propiedades antidiarreicas según hierberos y pobladores, mencionando una inhibición sobre el peristaltismo intestinal. El resultado obtenido en el presente estudio muestra que no se tienen efectos como la inhibición del peristaltismo intestinal. Por lo que se evidencia que su uso como tratamiento para la diarrea no es recomendable, y que se debe implementar una regulación del uso de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades, ya que pueden tener efectos secundarios no estudiados que pueden ser perjudiciales para la salud con dosis muy altas no estudiadas en este trabajo.

### 10.1 Dosis letal (DL50)

Realizado el ensayo de Dosis Letal 50 (DL50, dosis de cualquier sustancia que causa la muerte del 50% de los animales de prueba) para *Arctostaphylos pungens* por el método de Lorke, la definición menciona que para determinarse la DL50 se requiere la muerte del 50% de la población<sup>40</sup>, a dosis de 5 mg/kg, 50 mg/kg y 500 mg/kg no se encontró ningún ratón muerto durante el periodo de observación, sin embargo, para alcanzar la dosis letal 50 se requiere una dosis del extracto superior a 500 mg/kg dando una DL50 baja siendo la dosis máxima empleada en este estudio, lo cual nos indica una toxicidad muy baja.

## 10.2 Evaluación del efecto antidiarreico de motilidad intestinal en ratón

Las Figuras 14 a la 26 de la prueba muestran los grupos control, dosis del extracto acuoso de la semilla de pingüica (*Arctostaphylos pungen*) y grupos completos (controles y dosis de extracto). Realizando una comparación entre los grupos control de las seis partes de la prueba de motilidad intestinal, se puede observar que en el tratamiento con vehículo no se tiene recorridos uniformes sobre el tránsito intestinal, esto puede explicarse debido a que el vehículo no tiene efecto sobre la motilidad intestinal, lo que contrasta con el tratamiento con Loperamida, ya que se puede observar que el marcador ha recorrido distancias cortas o quedando en el estómago.

Por último, para el tratamiento con Loperamida se observa que los intestinos se encuentran casi vacíos, esto es debido a que se tuvo una inhibición del tránsito intestinal, este es un efecto esperado de este medicamento.

La Loperamida es un medicamento utilizado contra la diarrea, ya que inhibe la motilidad intestinal por su unión sobre los receptores opioides del tejido nervioso intestinal, lo que inhibe la liberación de acetilcolina y prostaglandinas en el plexo mientérico de Auerbach. También inhibe la secreción intestinal de agua y electrolitos<sup>41</sup>, como se puede observar en los cuadros 2 y 3 la Loperamida obtuvo una inhibición del peristaltismo intestinal de los ratones, del subconjunto 1, mientras que en el subconjunto 2 se encuentra el control negativo con las demás dosis utilizadas del extracto estudiado.

El grupo administrado del vehículo contiene aceite de ricino únicamente muestra un largo recorrido del marcador, esto va de acuerdo con el efecto de este aceite, pues tiene el efecto laxante.<sup>43</sup>

Al evidenciarse los efectos de las diferentes dosis se obtuvo que presentaban diferencias de unas a otras, donde se observaban retención de materia fecal en algunos grupos de diferentes dosis y en otros grupos de dosis se marcaba avances del carbón activado. Comparando los grupos a simple vista no era fácil identificar diferencias de un grupo respecto a otro.

Este efecto se puede explicar debido a que la semilla de la pingüica posee en su estructura química diversos compuestos, entre los que se encuentran taninos, este último o astringente que produce efectos de sequedad de la mucosa intestinal debido a que precipitan las proteínas, esto también da como resultado protección a la membrana celular, es por esto por lo que estas sustancias son consideradas como antidiarreicos.<sup>42</sup>, lo que provoca deposiciones más secas.

Cabe resaltar que estas propiedades son individuales para cada componente, y que *Arctostaphylos pungens* contiene diversas sustancias que al combinarse pueden dar efectos diferentes.

Analizando los resultados se observa que la semilla de pingüica no posee ningún efecto al utilizarse como un remedio herbolario, pues los resultados indican que no tiene efecto antidiarreico.

Fue utilizado el método de evaluación del efecto antidiarreico en ratones, en el cual se pudo evidenciar que el extracto de *Arctostaphylos pungens* no posee un

efecto de inhibición de peristaltismo, esto utilizando Loperamida como fármaco de referencia. La inhibición fue demostrada por el uso de carbón activado como marcador que permitió visualizar el detenimiento del peristaltismo, observándose mayores marcas a las concentraciones utilizadas del extracto acuoso (31.5 mg/kg, 100 mg/kg, 316 mg/kg y 560 mg/kg) y vehículo.

Al obtenerse las medidas de todos los intestinos se analizaron en el programa estadístico SPSS versión 21, donde al realizarse la prueba de ANOVA de un factor (cuadro 1) se obtuvieron diferencias significativas para las variables “promedio” y “avance total del marcador” de las demás variables.

Los resultados del cuadro 2 y 3 muestran que para las variables “promedio” y “Avance total del marcador” con la dosis de Loperamida contra las dosis del extracto acuoso de la semilla de la pingüica no se encuentra un efecto inhibitorio de la motilidad intestinal, el planteamiento del problema de esta tesis es fundamentado por la composición de *Arctostaphylos pungens*, dicho efecto es similar al que muestra la Loperamida con ciertos compuestos, contrastado con el efecto del vehículo donde no se muestran alteraciones en la motilidad intestinal de los ratones.

## 11. Conclusiones

- Se logró identificar que las dosis administradas del extracto acuoso de *Arctostaphylos pungens* no posee efecto antidiarreico
- No se encontró dosis letal 50, posiblemente sea mayor que la dosis de 500 mg/kg.
- Se obtuvo las semillas de la pingüica
- Se realizó el extracto acuoso de la semilla de la pingüica
- Se observó el efecto del peristaltismo en los intestinos de los ratones al finalizar el estudio

## **12. Perspectiva**

- Se sugiere para los siguientes estudios de peristaltismo intestinal aumentar la administración de dosis más altas de 560 mg/kg.

### 13. Referencias

1. OMS | Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales [internet] [consultado 23 agosto 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
2. Gómez I. El uso de las plantas medicinales [Internet]. México [citado 2018 agosto 15]. Disponible en: [https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6\\_p23-26\\_2010-0.pdf;jsessionid=28AE7847E1D0418205EB8B67109F2B17?sequence=1](https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p23-26_2010-0.pdf;jsessionid=28AE7847E1D0418205EB8B67109F2B17?sequence=1)
3. Lincoln T, Eduardo Z. Fisiología vegetal. 3ra edición. Universidad Jaume I, 2007
4. Quiroz V. Caracterización de compuestos Activos por HPLC y cultivo in-vitro de *Arctostaphylos pungens* [Internet]. UDLAP. Universidad de las Américas Puebla. [Actualizado a abril 5 de 2017; consultado 16 de octubre del 2018]. Disponible en: [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lbi/vega\\_quiroz\\_me/capitulo1.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lbi/vega_quiroz_me/capitulo1.pdf)
5. Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). [Internet]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2011 [citado 2018 agosto 07]. Disponible en: <http://www.ib.unam.mx/botanica/herbario>

6. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. [Internet]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2009 [citado 2018 agosto 4]. Disponible en:  
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=ping%C3%BCica&id=7917>
7. Romana F, Multari G, Pagliuca G, Panusa A, Palazzino G, Bearberry. Identification by a multidisciplinary study on commercial raw materials. Taylor & Francis. 2013; 27(8): 735–742.
8. López A. Unidad de aprendizaje. Facultad de ciencias agrícolas, ingeniero agrónomo industrial. AUEM. México. Octubre 2016.
9. Jurado E, Márquez L, Flores J. Efecto del almacenamiento en frío, el calor, el humo y el carbón en la ruptura de la latencia de las semillas de *Arctostaphylos pungens* HBK (*Ericaceae*). Scielo. 2010;18(3):75-78
10. SEMARNAT. Manual que establece los Criterios Técnicos para el Aprovechamiento Sustentable de Recursos Forestales no Maderables de Clima Templado-Frío. México. Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables.
11. Alimentoscon. Pinguica: Beneficios y como consumirla para aprovechar sus propiedades [Internet]. México [citado 2018 Septiembre 01]. Disponible en: <https://alimentoscon.com/pinguica>
12. Seyhan E. Química orgánica: estructura y reactividad. 2da edición. Barcelona: Reverté, 1998.
13. Roldan E. Introducción a la toxicología. México. UNAM, FES Zaragoza, agosto de 2016.

14. Boticario C y Cascales M (2012) Digestión y metabolismo de nutrientes. UNED. Madrid ISBN 978 84 615 8137 5
15. Rosell Puig, W, González Fano B, Cué Mourellos C, Dovale Borjas C. Organización de los sistemas orgánicos del cuerpo humano para facilitar su estudio. Educación Médica Superior La Habana, Cuba: Editorial Ciencias Médicas;2014:18(3):1
16. Pocock G. *Fisiología humana: la base de la medicina*. 2ª ed. Barcelona: Masson; 2005.
17. Motilidad gastrointestinal. [internet] [consultado 17 noviembre 2018]. Disponible en: <http://media.axon.es/pdf/63750.pdf>
18. Villegas C., Herrería E. Intestino Delgado y patologías asociadas a la mala absorción intestinal. [Tesis]. Universidad de la Cantabria. Casa de salud Valdecilla. Febrero 2013
19. Salinas A, Araujo J. Inhibition of intestinal transit by methanolic extracts of *Annona muricata* L. sheets (Soursop) in mice. *Ciencia e Investigación*. 2011; 14(1): 9-13
20. Tortora, G.J. Derrickson, B. *Principios de anatomía y fisiología*. 11ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006.
21. World Health Organization. A manual for the treatment of acute diarrhoea or use by physicians and other senior health workers. Geneva: Program for Control of Diarrhoeal Diseases, World Health Organization; 2: 1990.

22. Urrestarazu M, Liprandi F, Pérez E, González R, Pérez I. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. *Scielo*.1999;6(3):149-156
23. Riverón R, Mena V. Desequilibrio hidroelectrolítico y ácido-base en la diarrea. *Revista Cubana de Pediatría*. 2000; 72 (3):170-181
24. Pérez I, Dehollain P, Pérez M, Daoud N, Soto I, González M. Impacto de las enfermedades diarreicas en el estado nutricional del niño. *Anven Nutr* 1988;1: 119-128.
25. OPS. Manual de tratamiento de la diarrea. Serie Paltex No. 13. OPS. Organización Mundial de la Salud. 1987: 4-31.
26. Victoria CG, Bryce J, Fontaine O, Monash R. Reducción de la mortalidad por diarrea mediante la terapia de rehidratación oral. *Bull WHO*. 2003; 78(10): 1246-55.
27. Quijano Pitman F. La hidratación oral en la diarrea: una prioridad mexicana. *Gac Mex*. 2003; 131(5/6):584.
28. Alabi SA, Odugbeni T. Occurrence of *Aeromonas* species and *Plesiomonas shigelloides* in patients with and without diarrhea in Lagos, Nigeria. *J Med Microbiol*.2003; 32(1):45-8.
29. Riverón Corteguera R. Shigellosis en menores de 5 años. En: Manejo efectivo de diarreas agudas en niños y cólera. *Memorias del VII Curso Internacional*. UNICEF, OPS, OMS, 2003; 162-177.
30. Neil MA. Patogénesis os *Escherichia coli* 0157H7 infections. *Current Op Infect Dis*. 2004; 7:295-303.

31. Prado Jiménez V, Cordero J, Garreaud MC, Arellano H, Nachar H, Luz C, et al. *Escherichia coli* enterohemorrágica en el síndrome urémico hemolítico en niños chilenos: evaluación de diferentes técnicas de diagnóstico de infección. *Rev Med Chile*. 2005; 123(1):13-22.
32. Prado Jiménez V, Basalto W, Arellano H, Martínez C, Levine J. Susceptibilidad in vitro de *Escherichia coli* entero hemorrágica frente a 11 microbianos: relación entre resistencia antibiótica y genotipo toxigénico. *Rev Med Chile* 2005; 123(9):1085-90.
33. DuPont HL. Systematic review: the epidemiology and clinical features of travellers' diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30(3):187- 96.
34. Riverón R, Mena V. Desequilibrio hidroelectrolítico y ácido-base en la diarrea. *Revista Cubana de Pediatría*. 2000; 72 (3):170-181
35. World Health Organization. A manual for the treatment of acute diarrhoea or use by physicians and other senior health workers. Geneva: Program for Control of Diarrhoeal Diseases, World Health Organization; 2: 1990.
36. Santosham M, Greenough WB. Oral rehydration therapy a global perspectiva. *J Pediatr* 1991; 118: S44-51.
37. Johnson M. Laboratory mice and rats. *mater methods* 2012; 2:113
38. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Centro Nacional de Productos Biológicos Instituto Nacional de Salud. LIMA, 2008.
39. Cosme I. El uso de plantas medicinales. *Revistaintercultural*. Enero 2008.

40. Lorke D. A new Approach to Practical Acute Toxicity Testing. Arch Toxicol. 1983; 54: 275-287.
41. Motilidad gastrointestinal. [internet] [consultado 28 Ene 2018]. Disponible en: <http://media.axon.es/pdf/63750.pdf>
42. Sandhu BK, Tripp JH, Candy DC, Harries JT. Loperamide: studies on its mechanism of action. Gut 1981; 22(8): 658.
43. [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi\\_2k8/prods/PRODS/Aceite%20de%20ricino.htm](http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Aceite%20de%20ricino.htm)

## 14. Anexos

	Nombre	Tipo	Anchura	Decimales	Etiqueta	Valores	Perdidos	Columnas	Alineación	Medida	Rol
1	Grupo	Numérico	8	2		{1.00, Vehic...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
2	longitudtotal	Numérico	8	2		Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
3	longitudinicial	Numérico	8	2		Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
4	recorridodel...	Numérico	8	2		Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
5	promedio	Numérico	8	2		Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
6	avancetotal...	Numérico	8	2		Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											
25											

Vista de datos Vista de variables

IBM SPSS Statistics P

basedatos0.1mora.sav [Conjunto\_de\_datos1] - IBM SPSS Statistics Editor de datos

Archivo Editar Ver Datos Transformar Analizar Marketing directo Gráficos Utilidades Ventana Ayuda

	Grupo	longitudtotal	longitudinicial	recorridodelm arcador	promedio	avancetotalde lmarcador	var	var	var	var	va
1	1.00	70.30	29.00	22.20	40.40	51.80					
2	1.00	70.60	28.00	15.40	35.70	43.40					
3	1.00	62.20	23.30	9.40	28.00	32.70					
4	1.00	63.50	16.40	17.60	25.20	34.00					
5	1.00	61.00	19.00	7.50	22.75	26.50					
6	1.00	72.00	33.00	4.50	35.25	37.50					
7	1.00	68.00	15.20	31.20	30.80	46.40					
8	1.00	67.50	10.30	27.90	24.25	38.20					
9	1.00	71.70	16.80	31.70	32.65	48.50					
10	1.00	72.00	17.00	17.70	25.85	34.70					
11	1.00	65.50	24.10	18.80	33.50	42.90					
12	1.00	65.00	17.40	15.10	24.95	32.50					
13	1.00	71.10	27.00	9.40	31.90	36.60					
14	1.00	68.50	29.90	1.00	30.40	30.90					
15	1.00	79.00	34.00	7.10	37.55	41.10					
16	2.00	81.70	.00	.00	.00	.00					
17	2.00	73.60	5.50	14.80	12.90	20.30					
18	2.00	73.20	16.50	28.00	30.50	44.50					
19	2.00	69.00	2.50	24.00	14.50	26.50					
20	2.00	75.00	24.30	7.10	27.85	31.40					
21	2.00	76.00	35.30	13.00	41.80	48.30					
22	2.00	69.00	9.30	6.90	12.75	16.20					

1

Vista de datos Vista de variables

	Grupo	longitudtotal	longitudinicial	recorridodelm arcador	promedio	avancetotalde lmarcador	var	var	var	var	var
22	2.00	69.00	9.30	6.90	12.75	16.20					
23	2.00	69.30	28.80	10.30	33.95	39.10					
24	2.00	73.30	37.20	5.00	39.70	42.20					
25	2.00	65.50	.00	8.90	4.45	8.90					
26	2.00	74.00	7.70	18.40	16.90	26.10					
27	2.00	62.20	.00	8.80	4.40	8.80					
28	2.00	68.20	.00	12.40	6.20	12.40					
29	2.00	64.00	.00	3.90	1.95	3.90					
30	2.00	78.60	37.80	2.70	39.15	40.50					
31	2.00	67.80	10.00	19.70	19.85	29.70					
32	3.00	70.70	14.50	22.80	25.90	37.30					
33	3.00	73.60	26.80	13.70	33.65	40.50					
34	3.00	70.30	24.50	19.30	34.15	43.80					
35	3.00	72.00	23.00	6.00	26.00	29.00					
36	3.00	69.40	29.50	9.50	34.25	39.00					
37	3.00	70.50	20.20	17.00	28.70	37.20					
38	3.00	70.40	22.30	13.10	28.85	35.40					
39	3.00	70.10	15.30	12.70	21.65	28.00					
40	3.00	69.80	23.20	4.20	25.20	27.30					
41	3.00	70.50	20.30	31.70	36.15	52.00					
42	3.00	69.80	39.70	7.00	43.20	46.70					
43	3.00	70.50	26.50	15.90	34.45	42.40					

1

Vista de datos Vista de variables

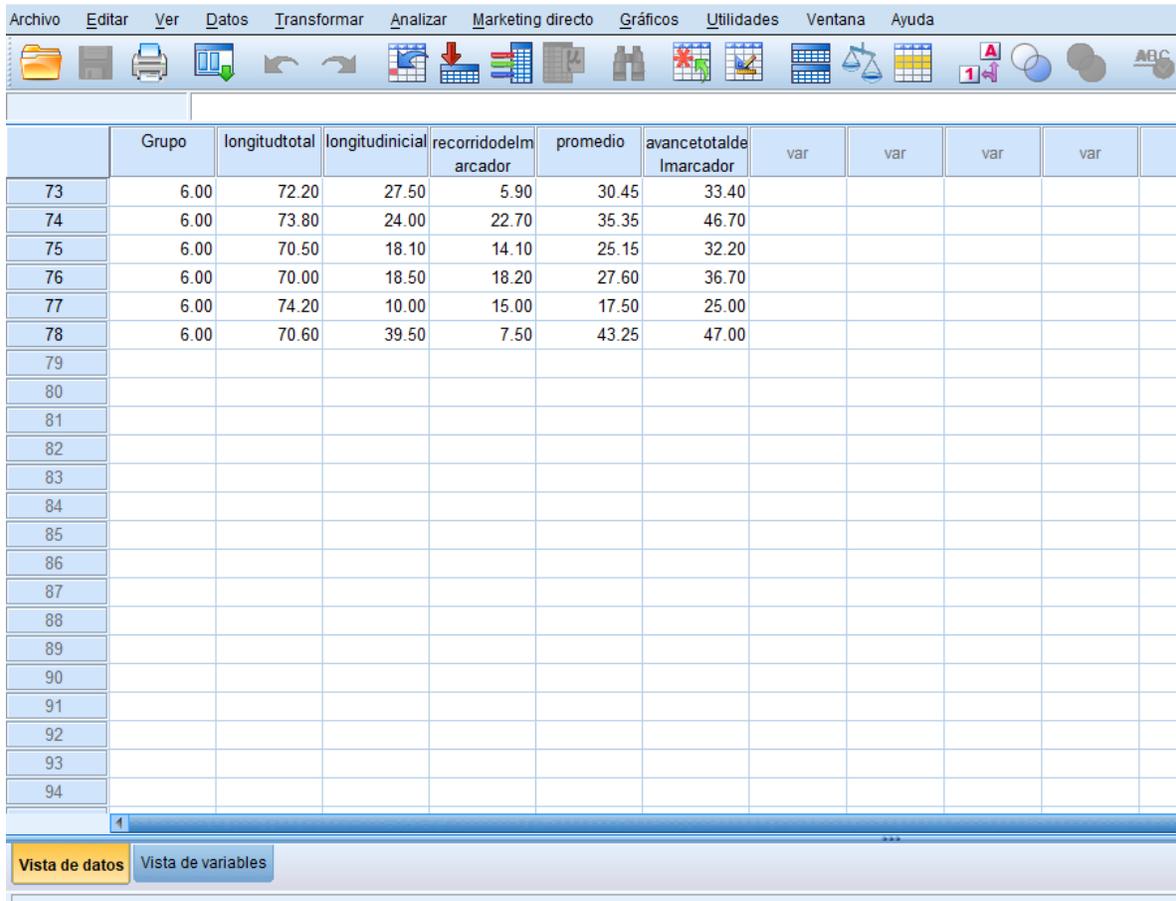
Abrir documento de datos

	Grupo	longitudtotal	longitudinicial	recorridodelm arcador	promedio	avancetotalde lmarcador	var	var	var	var	v
43	3.00	70.50	26.50	15.90	34.45	42.40					
44	3.00	76.40	7.90	20.00	17.90	27.90					
45	4.00	66.40	27.50	11.50	33.25	39.00					
46	4.00	72.70	35.50	6.00	38.50	41.50					
47	4.00	77.70	33.20	16.50	41.45	49.70					
48	4.00	77.00	36.00	2.20	37.10	38.20					
49	4.00	66.10	16.00	23.20	27.60	29.20					
50	4.00	75.00	33.50	10.90	38.95	44.40					
51	4.00	67.30	34.20	4.00	36.20	38.20					
52	4.00	69.50	23.00	16.00	31.00	39.00					
53	4.00	66.10	15.70	22.60	27.00	38.30					
54	4.00	64.30	19.70	13.20	26.30	32.90					
55	4.00	71.00	30.10	3.00	31.60	33.10					
56	4.00	75.40	13.30	12.90	19.75	26.20					
57	4.00	72.50	30.30	6.30	33.45	36.60					
58	5.00	81.70	35.60	15.70	43.45	51.30					
59	5.00	79.30	23.20	15.00	30.70	38.20					
60	5.00	64.20	34.40	10.90	39.85	45.30					
61	5.00	64.50	23.40	9.30	28.05	32.70					
62	5.00	63.50	23.20	15.80	31.10	39.00					
63	5.00	71.50	24.40	22.40	35.60	46.80					
64	5.00	63.40	35.00	10.50	40.25	45.50					

1

Vista de datos Vista de variables

Abrir documento de datos



The screenshot shows a software interface with a menu bar (Archivo, Editar, Ver, Datos, Transformar, Analizar, Marketing directo, Gráficos, Utilidades, Ventana, Ayuda) and a toolbar with various icons. Below the toolbar is a table with the following data:

	Grupo	longitudtotal	longitudinicial	recorridodelm arcador	promedio	avancetotalde lmarcador	var	var	var	var
73	6.00	72.20	27.50	5.90	30.45	33.40				
74	6.00	73.80	24.00	22.70	35.35	46.70				
75	6.00	70.50	18.10	14.10	25.15	32.20				
76	6.00	70.00	18.50	18.20	27.60	36.70				
77	6.00	74.20	10.00	15.00	17.50	25.00				
78	6.00	70.60	39.50	7.50	43.25	47.00				
79										
80										
81										
82										
83										
84										
85										
86										
87										
88										
89										
90										
91										
92										
93										
94										

At the bottom of the interface, there are two buttons: "Vista de datos" (highlighted in orange) and "Vista de variables".