



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFEECTO ANTIESPASMODICO DEL XANTORRIZOL AISLADO DE LA PLANTA *Iostephane heteropylla* SOBRE LA CONTRACCION INDUCIDA POR LA ACTIVACION DEL ACOPLAMIENTO ELECTROMECHANICO DEL MUSCULO LISO DE UTERO AISLADO DE RATA.

PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P O R MARIA DE LOURDES ESCOBAR REINA

ASESORES: HECTOR ANTONIO PONCE MONTER DR. EN C. DAVID PAEZ ESQUILIANO M.V.Z.





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

INTEGRANTES DEL JURADO



MVZ Luis Ocampo Camberos
PRESIDENTE

MVZ Enedina Silva Cabrera
VOCAL

MVZ Miguel Angel Martínez C.
SECRETARIO

MVZ Arturo Carmona Mancilla
SUPLENTE

MVZ David Paez Esquiliano
SUPLENTE

DEDICO EL PRESENTE TRABAJO A:

TODAS AQUELLAS PERSONAS E
INSTITUCIONES QUE OCUPAN
UN LUGAR EN MI CORAZÓN
Y CONTRIBUYERON A
MI FORMACIÓN PERSONAL,
PROFESIONAL Y ACADÉMICA.
SOBRE TODO A ALGUIEN QUE
ME HA PERMITIDO CUMPLIR
TODOS MIS SUEÑOS Y ME
HA CUIDADO EN TODO INSTANTE
¡¡ GRACIAS DIOS !!

GRACIAS:

Al
Dr. Héctor Ponce Monter
MVZ. David Paez Esquiliano
Por su disponibilidad para la transmisión del
conocimiento.

A la
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Por enseñarme que la formación de un individuo
no solo depende del carácter científico
si no también del humano.

Al
Departamento de Fisiología y Farmacología
Por darme la oportunidad de continuar
con mi desarrollo personal y profesional.

A la
Unidad de Investigación Médica en Farmacología
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional
"Siglo XXI" del IMSS
Por su apoyo, calidez, confianza y amistad
la cuál me enseñó el lado humano de esta Unidad de Investigación.

A mis padres:

Fidel: Gracias por tu apoyo

Ma. de Lourdes: Por tu confianza, por ser mi amiga
y enseñarme lo importante del ser humano.

Gracias por ser mi mami.

A mis hermanos, los amo:

Fidel: Por tus cuidados y por todo lo que he aprendido
de ti.

Carlos: Por tu capacidad e inteligencia, siempre te he
admirado.

Genaro: Gracias por seguir con nosotros y gracias por
tu loca alegría.

Marco A.: Por tu enorme sabiduría.

A mis "hermanitas" y sobrinos:

Irma, Alicia y Blanca gracias por su constancia y entusiasmo.

Rosita: Siempre serás mi grandota.

Fidel A: Por ser un loco bajito que se incorpora.

A Paco:

Ser especial que para mi fortuna conocí en mi vida.

Gracias por permitirme crecer como humano a tu
lado. TE AMO.

A mis terribles amigos(as):

Marga y Rocío: Por que aún existen grandes seres como ustedes.

Angélica y Armida: Por aceptarme tal cual soy.

Elsa y Rita: Por tener siempre una mano extendida.

Alex: Por ser como mi hermano.

A Guillermo, Anibal, Luis, Héctor, José Luis, Braulio, Susi, Mary y Pili: Por enseñarme el
valor de la amistad y de llenar mi vida de momentos hermosos.

A Miguel A., Toño O., Hugo L., Beto C., Lucero M., Daniel A., Luis M., Gabriel S. y
Erick.

A Alberto:

Por estar siempre en mi recuerdo.

A mis perritos:

Los mejores amigo del hombre que me han enseñado a respetar la vida, en especial a la
Pipa.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
1. RESUMEN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	2
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
4. HIPÓTESIS.....	17
5. OBJETIVOS.....	17
6. MATERIAL Y MÉTODO.....	18
7. RESULTADOS.....	23
8. DISCUSIÓN.....	25
9. LITERATURA CITADA.....	28
10. FIGURAS.....	35
11. CUADROS.....	47
12. GRÁFICAS.....	51

ABSTRACT

ESCOBAR REINA MARÍA DE LOURDES. Effects of xantorizole isolated from *Iostephane heterophylla* on the electro-mechanic coupling-activation induced-contraction of the uterine smooth muscle of the rat. Supervisor: Héctor Ponce Monter and David Paez Esquilano.

It has been proposed that *Iostephane heterophylla* possesses spasmolytic properties. However, to the best of our knowledge, in the specialized medical literature no reports have published concerning the effects of the main active principle of such plant: xantorizole, on the motility of uterine smooth muscle in the rat. Therefore, it was regarded as useful to test the effects of xantorizole in such tissue under *in-vitro* conditions. Twenty oestrogen-primed female Sprague Dawley rats, weighing 250-300 g were euthanised with a pentobarbitone overdose. Their uteri were recovered and two 10 mm ring-segments of each horns middle portion were placed in 4 corresponding chambers. Contractile activities of the uterine rings were measured in a conventional isometric recording system. Five groups were formed with 12 rings each as follows: group 1 served as control in which increasing concentrations of KCl were applied (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 mM); the following 4 groups were used as experimental ones. These latter groups were pre-incubated with different doses of xantorizole (3, 10, 30, 100 µg/ml). Results were incorporated into dose-response relationships to inhibit KCl-induced contraction. Mean 50% and maximal effective doses (ED50 and ED99) were calculated from each group. Statistically significant differences ($P < 0.05$) were obtained in all groups treated with xantorizole when ED99 were compared with contractile values obtained in the control group. Also, ED50 obtained in group 4 showed to be different ($P < 0.05$) from control group. Hence these studies can be taken as indication that xantorizole is capable of inhibiting the KCl electro-mechanic coupling-contraction of the estrogen-primed rat uterine smooth muscle in a concentration dependent manner.

RESUMEN

ESCOBAR REINA MARÍA DE LOURDES. Efecto del xantorrizol aislado de la planta *Iostephane heterophylla* sobre la contracción inducida por la activación del acoplamiento electromecánico del músculo liso de útero de rata (bajo la dirección de Héctor Antonio Ponce Monter y David Paez Esquiliano).

Hasta donde se conoce no existe en la literatura médica ningún reporte del efecto del xantorrizol, sobre la musculatura lisa uterina, que pueda relacionarse con la acción aniespasmódica que se le ha atribuye a la planta medicinal *Iostephane heterophylla* de donde se aisló este compuesto. Debido a esto se decidió evaluar el posible efecto del xantorrizol sobre la actividad electromecánica del músculo liso uterino de rata.

En esta investigación se utilizaron 20 ratas hembras Sprague Dawley, estrogenizadas, de 250 a 300 g, las cuáles se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico. Se extrajo el útero y de la parte media de cada cuerno uterino se tomaron 2 segmentos de 10 mm de longitud. Obteniendo así de cada rata 4 anillos uterinos. Cada anillo uterino se colocó en una cámara de tejidos aislados. La actividad contráctil de los anillos uterinos aislados se midió en un sistema de registro isométrico convencional. Se hicieron 5 grupos, cada uno con 12 anillos uterinos; el grupo 1 se utilizó como control, con concentraciones crecientes de KCl (5,10,20,30,40,50,60,70 mM), en ausencia de xantorrizol. Los cuatro grupos restantes integraron a los tratamientos experimentales sometidos a preincubación con diferentes dosis de xantorrizol (3,10,30,100 µg/ml) respectivamente. Los resultados se presentaron en gráficas de curvas concentración - respuesta a KCl; fueron determinados los valores promedio de la concentración efectiva cincuenta (CE_{50}) y de la respuesta máxima (R_{max}) de cada grupo. Se obtuvo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) de la R_{max} con respecto al control, de todos los grupos sometidos a xantorrizol y también se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en la CE_{50} del grupo 4 (KCl 30 µg/ml de xantorrizol) con respecto al control. En este estudio farmacológico se demostró que el xantorrizol inhibe en forma dependiente de la concentración el acoplamiento electromecánico inducido por soluciones despolarizantes de KCl sobre el músculo liso uterino aislado de rata estrogenizada.

A todo *mis maestros e ingenieros amigos* por enseñarme las bases para seguir aprendiendo en mi desarrollo como ingeniero y hombre.

Al *American Concrete Institute (ACI) Sección Centro y Sur de México, las Empresas, Institutos, Ingenieros y personas* que allí laboran por su ayuda dentro de mi formación académica. En especial a Grupo Apasco por apadrinarnos en la fundación del capítulo del American Concrete Institute en la Facultad de Ingeniería.

A todos ellos y los demás por hacerme ser la persona que soy.

1.- INTRODUCCIÓN

Antecedentes

Desde tiempos remotos, los pueblos primitivos adquirieron conocimientos sobre las propiedades medicinales de gran número de plantas propias de su medio ambiente, estos conocimientos han dejado múltiples descripciones de las plantas medicinales y de su uso, que incluso se ocupan en la actualidad. ^(1,2)

México, particularmente posee una gran cultura botánica; alrededor del año 1519 ya contaba con un alto nivel de conocimientos médicos fundamentados en una ancestral tradición herbolaria. ⁽³⁾

Aunque gran parte de esta información se llegó a perder, algunos de los conocimientos sobre plantas medicinales, se transmitieron hasta nuestros días; por diversas fuentes entre las que destacan los trabajos de fray Bernardino de Sahagún en 1557, que recopila los datos sobre las costumbres indígenas en la Nueva España en el código Florentino. Así mismo, Martín de la Cruz realizó una descripción de los métodos terapéuticos en un código profusamente ilustrado con dibujos de plantas medicinales y sus nombres en nahuatl, así como la descripción de sus efectos y las formas de aplicación médica. Juan Badiano hizo una versión en latín de éste, que en la actualidad se le conoce con el nombre de Código Badiano. Francisco Hernández a finales del siglo XVI, viajó por la Nueva España, acompañado de escribanos, dibujantes y médicos indígenas, con quienes explora sistemáticamente la distribución, efectos y utilidad de las plantas medicinales según su orientación galénica, aportando el libro "Historia de las Plantas". ^(1,2,3,4,5)

Muchos curanderos también contribuyeron en esta transmisión, conservando sus conocimientos en secreto y solo los fueron transmitiendo oralmente a sus descendientes; no obstante gran cantidad de esta información, fue divulgada entre el pueblo y es así como, por tradición ha llegado a nuestros días el conocimiento del uso de muchas plantas medicinales. ^(1,2)

La medicina tradicional es parte tanto de la cultura como de la tradición de cada lugar en donde ha sido transmitida de generación en generación y su aceptación por una determinada población está condicionada a diversos factores culturales.⁽¹⁾

Por ejemplo, la práctica de la medicina tradicional basada en las plantas medicinales, es común en varias comunidades del país, entre las que se encuentran las de bajos recursos y las indígenas, que hacen uso de los recursos naturales a su alcance según sus necesidades y su tecnología.^(6,7)

México es uno de los países más interesantes y complejos del mundo en especies vegetales; según cálculos, el número de plantas nativas se estima en 30 000 y dentro de estas especies nativas, se cree que hay aproximadamente unas seis mil especies de plantas medicinales, pero de esta cifra sólo se tienen documentadas unas tres mil, y por ello se calcula que se conoce tan solo un 50 % de las especies de plantas medicinales nacionales.^(6,8)

A nivel mundial se menciona que de las siete mil especies vegetales actualmente en uso y botánicamente clasificadas solo se conocen, con criterios de carácter experimental y científico, las propiedades de menos de cien (1.5% aproximadamente).⁽⁸⁾

Por esto es importante conocer la efectividad de las plantas medicinales que se usan actualmente para poder proporcionar una mejor orientación respecto a su empleo.⁽⁹⁾

Se podría explicar la falta de investigación en este campo debido a la evolución de las ciencias químicas en el siglo XIX, que permitió separar los principios activos de las plantas, dando la posibilidad de crearlos artificialmente por síntesis química, surgiendo así numerosos medicamentos. Estos productos fueron eliminando a los compuestos vegetales de modo que a principio del siglo XX éstos eran muy pocos, quedando el empleo de plantas medicinales fuera de la medicina moderna.⁽⁶⁾

En los últimos tiempos el estudio de las plantas medicinales ha mostrado un fuerte incremento en todo el mundo, con el fin de encontrar nuevos principios activos para la elaboración de fármacos, o al no ser posible aún la síntesis artificial del principio activo. Siendo necesario aislar los principios activos afin de separar la acción evitando los posibles efectos adversos o no controlados de otros componentes presentes en las sustancias. Uno de los principales criterios para descubrir los nuevos productos naturales con actividad terapéutica, es el estudio de plantas que gozan de prestigio como agentes terapéuticos, dentro de la medicina tradicional. ^(6,7,9)

Por lo tanto, para preservar este valioso patrimonio y conocer la efectividad de las plantas medicinales es necesario realizar investigaciones que nos permitan recopilar estos conocimientos herbolarios. Si en nuestro país se logra difundir esta información y estudiarla de manera científica, la sociedad obtendrá sorprendentes e importantes beneficios de estas sustancias que de lo contrario, se perderán. ^(1,2,5,7)

Debido a este incremento de las investigaciones sobre las plantas medicinales en el mundo, el momento actual es propicio para impulsar el estudio de las plantas medicinales mexicanas, las cuales sometidas a un cotejo químico y experimental farmacológico pueden contribuir a mejorar los resultados obtenidos en la terapéutica médica, situación que ya existe en otros países. Uno de los más notables ejemplos es la República Popular China que inició en los años cincuenta la revalorización de su medicina tradicional, partiendo del importante postulado que de la eficacia de las plantas medicinales, empíricamente avalada por una tradición de siglos, debería ser valorada a través de la investigación científica moderna. Sin dejar de reconocer la necesidad de contar con una permanente investigación química y farmacológica (a la manera occidental) de los productos herbolarios usados en la población. Este modelo chino hacía uso de la medicina tradicional y de la "Occidental" de una manera combinada y altamente eficaz. ⁽⁸⁾ Además de China, otros países como Japón y Corea también llevaron a cabo estas estrategias de investigación en plantas medicinales. ⁽⁸⁾

Los productos naturales son la base de gran cantidad de fármacos usados en la medicina moderna; ejemplos representativos son la digoxina, teofilina, efedrina, pilocarpina, vincristina y vinblastina. Los compuestos de plantas también han servido como modelo del desarrollo de muchas drogas incluyendo los anestésicos locales como la lidocaina obtenida de la cocaína, los analgésicos desarrollados de los opiáceos o los bloqueadores musculares como la tubocurarina. Dentro de los más recientes e importantes hallazgos están el taxol (de *Taxus brevifolia*), usado para el tratamiento del cáncer de ovario, y un antimalario obtenido de *Artemisa annua*. El ajo es un remedio ancestral que era usado en el tiempo de los faraones pero no es sino hasta ahora que se ha demostrado su verdadero potencial como un antitrombótico y antiesclerótico. El jengibre es utilizado como antiemético especialmente durante el embarazo. Estos dos últimos se encuentran dentro de la dieta regular de los humanos. Es posible que la potencia de estos compuestos sea mínima y debido a esto sus efectos no sean suficientes para atraer el interés de la industria farmacéutica y justificar su desarrollo, sin embargo, esta baja potencia puede ser dependiente de la cantidad que sea ingerida. ⁽¹⁰⁾

En el **cuadro 1**, se indican algunas de las plantas medicinales que ya se han estudiado ampliamente y de donde se han obtenido principios activos útiles en la terapéutica actual.

En México se ha venido desarrollando una línea de investigación referente al estudio de plantas tradicionalmente utilizadas en la medicina tradicional y se ha encontrado que muchas de estas plantas se utilizan en forma de complejos; es así que el complejo "cachani"; es usado por la población como remedio ginecológico. ^(11,12)

Complejo cachani

Debido al intercambio cultural que se dio entre los diversos grupos étnicos diversas plantas curativas se fueron incorporando dentro de distintos complejos; cada uno esta formado por diversas plantas medicinales que se usan para remediar algún padecimiento en específico. En 1987 Linares y Bye, encontraron que de las 400 especies de plantas medicinales en México, estas se agrupaban en 25 complejos de plantas. Dentro de los complejos utilizados en la medicina tradicional, se encuentra el **complejo "cachani"** el cual es utilizado en la región central y norte de México.^(13,14,15,16)

Los nombres científicos y comunes de las especies que constituyen el complejo "cachani", se mencionan en el **cuadro 2**.

Otros complejos conocidos son: "chuchupate" (*Ligusticus porteri* y *Myroxylon balsamum*), "hierba de anís" (*Tagetes lucida*, *T. filifolia*, *T. micrantha*, *Artemisia dracunculus*, *Pimpinella anisum* *Illicium verum*) y "matarique" (*Psacalium decompositum*, *Peltatum*, *P. sinuatum* y *Aroutia thurberi*).⁽¹⁵⁾

Todas las especies del **complejo "cachani"** poseen raíces tuberosas o rizomas globulosos de los que emergen los tallos aéreos. En la base del tallo tienen pelos o escamas modificadas. Las raíces frescas y secas de estas plantas contienen una resina aromática y son la parte del vegetal que se utiliza para las preparaciones medicinales.⁽¹⁵⁾

"Cachanos" es el nombre indígena para los "entuetos" o dolores después del parto. Uno de los padecimientos tratados con el "complejo cachani" es la esterilidad.^(13,14,15)

A pesar de que las causas de esterilidad en hombres y mujeres pueden ser de múltiples orígenes, el hecho de que en general las especies botánicas del complejo "cachani" sean utilizadas para el tratamiento de la esterilidad, sugiere que este último puede estar asociado con una alteración en la tonicidad del músculo liso uterino. En la gestación para que la implantación se lleve a cabo, el músculo uterino requiere de cierto grado de tonicidad; en el caso de que se tratara de una matriz con hipertonicidad, los principios contenidos en la raíz de *Iostephane heterophylla*, planta perteneciente al complejo "cachani", ayudarían a mantener una condición necesaria para favorecer el implante.⁽¹³⁾

Iostephane heterophylla

Esta planta se utiliza para el tratamiento de afecciones cutáneas, granos, heridas, dolores de espalda, enfermedades respiratorias, picaduras ponzoñosas, problemas ginecológicos, etc.⁽¹⁷⁾

La raíz es utilizada como cicatrizante para heridas y llagas, se macera 1 g de raíz seca y es aplicado en la parte afectada después de haberse limpiado. También es utilizada para tratar la disentería tomando el cocimiento de 5 g de raíz en ¼ de agua por 3 días 3 veces al día.⁽¹⁷⁾

Los indígenas usan la raíz machacada y en emplastos para aliviar reumatismo y afirmar las articulaciones después de reducir los huesos dislocados o aplicando el polvo algo tostado sobre las úlceras. También utilizaban la frotación de una tintura alcohólica o el extracto acuoso en las articulaciones para el tratamiento de artritis.⁽¹⁷⁾

La raíz en forma de infusión se usa para tratar la diabetes, desórdenes gastrointestinales, purgante, catártico, cólicos, espasmo, problemas de postparto y padecimientos del hígado.
(11,18)

La preparación del remedio implica el uso de la raíz y las hojas, con las que se hace un té que cuando se mezcla con la hierba de teñir (*Dydimadea alsinoides*) y la flor de tila sirve para el dolor de pulmón; si el dolor es de huesos, sólo se emplea la maceración, de la raíz untada por todo el cuerpo (Nayarit). En Morelos la planta suele utilizarse en el temascal para baños postparto.⁽¹⁹⁾

Clasificación botánica

La clasificación botánica de *Iostephane heterophylla*, según Cronquist 1981 se muestra en el cuadro 3.⁽²⁰⁾

Esta planta pertenece a la familia de las Compositae; es denominada con el nombre científico *Iostephane heterophylla* y con nombres comunes como: la hierba de oso, hierba de manso, zacapal, liga, tlalapopolete, tecpahli (Morelos), bauji (Nayarit), corsoner (Sonora), acuitzehiriracua, chipaoacyztici, huichoquachaque y "escorcionera" en el resto de México. ^(11,12,19,21)

Distribución geográfica

Siendo originaria de México, su amplia distribución abarca desde el noreste del estado de Chihuahua y Sinaloa al sur de Oaxaca; generalmente habita en climas semisecos y templados entre los 2100 y los 2900 msnm y esta asociada a bosques de encino, roble, enebro y pino. Especie de hábito terrestre, se desarrolla principalmente en los claros de bosque por un mayor requerimiento de luz y calor. Se distribuye en forma regular en laderas de aproximadamente 50° o menos de pendiente. ^(18,19) **Figura 1**

Descripción botánica

Planta herbácea perene, a partir de una base tuberosa, a menudo ubicada a bastante profundidad; se presenta como una hierba de tallo erecto que mide aproximadamente un metro de altura; es subleñosa, con la raíz gruesa. ⁽²⁾ Las hojas de la base carecen de tallo, son alargadas y más grandes que las de la punta, ovaladas e irregularmente dentadas, hirsutas y rasposas en el haz y mucho más pálidas en el envés; pueden medir hasta 15 cm de largo hasta 18 cm de ancho. Las hojas superiores oblanceadas a lanceoladas u oblongas, hasta de 10 cm de largo. Las flores de color amarillo están rodeadas por pétalos de color lila semejantes a las margaritas, crecen en cabezuelas grandes y se localizan en las partes terminales de las plantas. ⁽¹⁹⁾ **Figura 2**

Colecta.

La planta de *Iostephane heterophylla* se colecta casi todo el año pero principalmente en los meses de agosto a octubre; su recolección se realiza principalmente en zonas boscosas. ⁽¹⁷⁾

Comercialización.

Esta especie se encuentra disponible en el mercado de Sonora, México D.F. Se vende en estado vegetativo en el mes de octubre. En los otros meses se tiene solo por encargo. Se vende en manojos de ramas frescas y la raíz se vende a razón de \$80.0 los 100 g (1999).⁽¹⁷⁾

Estudios fitoquímicos

De la raíz de esta planta medicinal, *Iostephane heterophylla*, se han obtenido varios componentes pertenecientes a la familia de los bisabolenos. En el presente trabajo se estudió el efecto farmacológico de uno de ellos, el xantorrizol, debido a que fue el compuesto que se aisló en mayor proporción.^(13,18,22)

Aislamiento e identificación de bisabolenos

En 1993 Aguilar y col. aislaron el compuesto xantorrizol a partir de la raíz de *Iostephane heterophylla*, la cuál fue cortada en pedazos y extraída con cloroformo, obteniendo una solución que fue destilada al vacío, obteniendo un residuo crudo de color café claro y con olor muy aromático. Del fraccionamiento de este extracto, obtuvieron 20 fracciones; denominadas progresivamente de la "Fracción A a la Fracción T".

De la "Fracción E", aislaron un compuesto aceitoso de color amarillo pálido, el cuál identificaron como "Xantorrizol", por las características que presentó. El xantorrizol con fórmula molecular de $C_{15}H_{22}O$ y peso molecular de 218, fue el compuesto de menor polaridad aislado de dicha fracción; el cual fue descrito como metabolito secundario en *Carcuma xantorrizo* (Xinziberaceae).^(18,23,24)

De 112 g de la raíz seca se aislaron 480 mg de xantorrizol; siendo el rendimiento total del compuesto puro de 0.43 %; por lo que fue el compuesto que se encuentra en mayor proporción en esta planta.⁽²²⁾ Su estructura química se muestra en la **Figura 3**.

Es por esto que se investigo el efecto del xantorizol, compuesto aislado en mayor proporción, sobre el músculo liso uterino aislado de ratas estrogenizadas para saber si este compuesto es responsable del efecto antiespasmódico atribuido a esta planta por la medicina tradicional.

Características del músculo liso.

El músculo liso se encuentra formando parte de las paredes de conductos como el intestino, los vasos sanguíneos, las vías aéreas y en órganos huecos como el útero. ^(25,26) Esta conformado por células fusiformes, más pequeñas que la del músculo esquelético, el núcleo se localiza en el centro. Las dos proteínas contráctiles son la miosina y la actina. ^(25,27) **Figura 4**

La miosina contiene dos cadenas pesadas idénticas y dos pares de cadenas ligeras de dos tipos diferentes. Cada cadena pesada se compone de una cabeza y una cola en forma de varilla con estructura de hélice α . Unidas a cada cabeza de miosina están dos pares diferentes de cadenas ligeras. ^(27,28)

En el músculo liso las hélices α se empaquetan juntas lateralmente para formar un agregado bipolar llamado filamento grueso. ⁽²⁸⁾ Tiene forma de varilla con proyecciones uniformemente distribuidas a todo lo largo, por lo que los filamentos gruesos del músculo liso carecen de la típica zona desnuda central de los filamentos de miosina del músculo estriado. ^(26,29)

La actina es una proteína globular constituida por dos cadenas de moléculas esféricas de pequeños tamaños enrolladas entre sí, formando un filamento helicoidal ^(25,26,28) Los cuerpos densos compuestos de α -actina, son estructuras filamentosas que se encuentran en el citoplasma y a lo largo de la membrana citoplasmática, aquí es donde se insertan los filamentos delgados. ⁽²⁶⁾ El deslizamiento de filamentos delgados (actina) y gruesos (miosina) ejerce tensión sobre los cuerpos densos y acortan la célula. ⁽³⁰⁾ **figura 5**

Diferencias entre el músculo liso y estriado

Los músculos lisos tienen estructuras moleculares muy semejantes a los del músculo estriado, pero los sarcómeros no están alineados de la manera en que están los de apariencia estriada. Los músculos lisos contienen moléculas de α - actina y tropomiosina, como el músculo esquelético pero no contienen el sistema de troponinas y las cadenas ligeras de las moléculas de miosina difieren de las de miosina del estriado; además, las miofibrillas muestran una distribución más irregular que la del músculo esquelético, y no se identifican claramente las líneas Z o los sarcómeros. Los filamentos finos se unen a áreas electrodensas de la membrana celular, cuerpos densos, que contiene la proteína α actina, equivalente a las líneas Z del músculo esquelético.^(25,27,31)

El proceso de contracción - relajación en el músculo liso está regulado por la concentración intracelular de calcio, el cual puede variar debido a diversos estímulos, como lo es la despolarización y la acción de ciertos agentes farmacológicos. Por lo tanto, el proceso contráctil en el músculo liso depende de dos tipos de acoplamiento que son electromecánico y farmacomecánico^(25,32,33,34)

Acoplamiento Farmacomecánico

El acoplamiento farmacomecánico, se refiere al medio por el cual ciertos agentes neurohormonales pueden aumentar la concentración de calcio intracelular. Los neurotransmisores, las hormonas y los fármacos pueden interactuar con receptores específicos de la membrana plasmática en el músculo para modular directamente los canales iónicos o estimular la producción de mediadores intracelulares, denominados "segundos mensajeros", que pueden modificar la actividad de los canales iónicos, las bombas iónicas de membrana o las propias proteínas contráctiles. Los segundos mensajeros principales son 1,4,5-trifosfato de inositol (IP_3) y los nucleótidos cíclicos (AMP_C y GMP_C)^(26,30,34)

Acoplamiento Electromecánico

En el acoplamiento electromecánico, la contracción del músculo liso esta mediada por la despolarización de la membrana celular por un estímulo eléctrico o químico (KCl 60 mM), que provoca aumento de la concentración de calcio intracelular por incremento en la difusión de este catión a través de los canales de calcio activados por el voltaje o por la inducción de la liberación de calcio de almacenes intracelulares.^(26,30,34) **figura 6**

En la actualidad se reconocen dos fuentes principales para inducir el incremento intracelular de Ca^{2+} :

- a) La entrada de Ca^{2+} extracelular, a través de los canales voltaje - dependientes
- b) La movilización de calcio almacenado intracelularmente, en el retículo sarcoplásmico (RS) ^(25,26,35,36)

Mecanismos contráctiles del músculo liso en el acoplamiento electromecánico

Cuando una célula de músculo liso es estimulada eléctrica o químicamente, se produce la despolarización de la membrana celular caracterizada por un incremento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ de 10^{-7} M a 10^{-5} M, a través de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, los cuales permiten la entrada de una cantidad suficiente de este catión para activar directamente a la maquinaria contráctil, o bien, al mecanismo de liberación de Ca^{2+} del RS.^(25,27,30,33)

Al aumentar el $[\text{Ca}^{2+}]_i$ este se une a la calmodulina, que es una proteína formada por 148 aminoácidos, posee 4 enlaces de unión para el calcio y forma parte de la cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK). La unión del Ca^{2+} a la calmodulina activa la cinasa de cadena ligera de la miosina, que a su vez fosforila a la miosina de cadena ligera (MCL), la cual deja de inhibir la interacción actina - miosina facilitando su interacción con la actina, la formación de enlaces cruzados entre actina y miosina y la contracción muscular.^(25,38,27,30,34) **figuras 7 y 8.**

Mecanismos de relajamiento del músculo liso en el acoplamiento electromecánico

La relajación del músculo liso ocurre cuando:

- 1) El $[Ca^{2+}]_i$ baja de $10^{-5} M$ a $10^{-7} M$ y se rompe el complejo Ca^{2+} - Calmodulina.
- 2) La calmodulina se separa de la cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK), inactivándola.
- 3) Ningún fosfato nuevo se adhiere a la cadena ligera de miosina (MCL), y la fosfatasa de la cadena ligera de miosina elimina los grupos fosfato existentes en la MCL.
- 4) La MCL desfosforilada inhibe la fijación de las cabezas de miosina a la actina.
- 5) La cabeza de la miosina se separa de la actina e impide que estas formen los enlaces cruzados con los filamentos de actina, produciendo la relajación. ^(25,26,27)

La relajación del músculo liso implica la reincorporación de Ca^{2+} a estructuras citoplasmáticas, principalmente en el RS el cuál toma el Ca^{2+} por la ATP-asa $Ca^{2+} Mg^{2+}$ embebida en la membrana del retículo sarcoplásmico o por medio de la expulsión del Ca^{2+} de la célula, a través de la bomba ATP-asa- Ca^{2+}, Mg^{2+} de la membrana plasmática. ^(25,26,27)

Según el tipo de contracción los músculos lisos se clasifican en:

I. Músculos Lisos Tónicos: Estas fibras son de contracción muy lenta y continua, lo que les permite tiempo para desarrollar la tensión, lo cuál ocurre mucho más despacio, en comparación con las fibras fásicas. El calcio que requiere este tipo de contracción proviene del medio extracelular principalmente. ^(33,39)

II. Músculos Lisos Fásicos: Estas potentes fibras se contraen rápidamente, pero se fatigan en seguida. Utilizan principalmente el Ca^{2+} proveniente del retículo sarcoplásmico para llevar a cabo la contracción. ^(30,39,40)

III Y los músculos Lisos Mixtos que tienen un patrón intermedio de contracción de tipo mixto, con contracciones fásicas superpuestas a los tónicas. ^(39,40)

De acuerdo a esta clasificación el músculo liso uterino es un músculo de tipo mixto. ⁽⁴⁰⁾

Las respuestas contráctiles del músculo liso uterino inducidas por el acoplamiento excitación - contracción son dependientes del estado endocrino del animal. Para evitar esta variación biológica, se utilizan úteros provenientes de animales previamente tratados con estrógenos, para inducir así la fase de estro en las ratas; obteniéndose de este modo respuestas útero tónicas y útero relajantes homogéneas y reproducibles. ⁽¹³⁾

Características del útero de la rata

En los mamíferos, el aparato reproductor femenino está constituido por los ovarios, oviducto, cuernos uterinos, útero, cérvix y vagina. ⁽³⁵⁾ El útero es la parte del aparato reproductor femenino que recibe al huevo fecundado, facilita su nidación y establece las relaciones vasculares necesarias para mantenerlo a lo largo de su desarrollo. ⁽⁴¹⁾

El útero de la rata es de tipo bicorneo; está conformado por los dos cuernos uterinos, aunque fusionados externamente, cada uno de los dos cuernos son independientes. ^(41,42,43)

Figura 9

La pared del útero es relativamente gruesa y está constituida por 3 tunicas, que de afuera hacia adentro son:

- 1) Serosa con tejido conjuntivo y mesotelio (perimetrio, peritoneo)
- 2) Miometrio, túnica de músculo liso muy desarrollado y
- 3) Endometrio, que es una mucosa. ^(32,43,44,45)

Miometrio

Es la túnica más gruesa del útero. Los haces de músculo liso, en úteros bicornios como el de los roedores, están arreglados normalmente en dos capas que forman el miometrio.

En la capa interna, los haces están arreglados concéntricamente alrededor del eje longitudinal; su contracción constriñe al lumen uterino.

En la capa externa, los haces están arregiados paralelamente al eje longitudinal del útero, y su contracción tiende a acortar el útero en dirección céfalo - caudal. ^(32,35,41,43,45)

Endometrio

Sus funciones son la preparación para la implantación del huevo fecundado y la formación de la parte materna de la placenta. El endometrio esta formado por epitelio y lámina propia. El epitelio reviste y secreta glucoproteínas (moco). El tejido conjuntivo de la lámina propia es rico en células y presenta abundante material intercelular amorfo. ^(35,41)

Serosa

La adventicia o serosa (perimetrio, peritoneo) está formada principalmente por tejido conjuntivo laxo. ⁽³⁵⁾ **Figura 10**

La parte inferior del útero que comunica a la vagina, es el cuello o cérvix. Presenta pocas fibras musculares lisas y gran cantidad de tejido conjuntivo. ^(45,46)

Siendo que el tejido uterino esta constituido por fibras de músculo liso principalmente longitudinales, esto lo convierte en un modelo experimental farmacológico útil para estudiar el efecto de diversos compuestos que interfieren con el acoplamiento excitación - contracción de la célula de músculo liso. ^(46,47,48)

Características del estro de la rata

Clasificación reproductora: hembra poliéstrica continua. El ciclo estral dura entre 4-5 días. La duración del estro aproximadamente es de 12 horas, en él se presenta la vulva inflamada. La citología típica del estro presenta células cornificadas. ⁽⁴⁹⁾

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde hace siglos se han utilizado las plantas medicinales como parte de la medicina tradicional mexicana. Sin embargo, en la actualidad existen pocos estudios que avalen su uso en la medicina moderna; por lo que se desconoce si alguno de los compuestos aislados de la planta medicinal *Iostephane heterophylla* tiene acción sobre la musculatura lisa produciendo el efecto antiespasmódico atribuido a esta.

Por lo tanto en este trabajo se investigó el efecto antiespasmódico del xantorrizol, debido a que fue el compuesto aislado en mayor proporción, sobre la contracción inducida por la activación del acoplamiento electromecánico del músculo liso de útero de rata.

3.- HIPOTESIS.

El xantorizol inhibe la contracción del músculo liso uterino inducida por soluciones despolarizantes de KCl (5,10,20,30,40,50,60,70 mM), en anillos uterinos aislados de ratas hembras adultas sensibilizadas con estrógenos.

4.- OBJETIVO

Demostrar que el xantorizol inhibe, en forma dependiente de la concentración, la actividad contráctil electromecánica inducida por soluciones despolarizantes KCl (5,10,20,30,40,50,60,70 mM), en anillos de músculo liso uterino aislados de rata pretratada con estrógenos.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron 20 ratas cepa Sprague Dawley, hembras adultas de 250 a 300 gramos, procedentes del bioterio del Centro Médico Nacional "Siglo XXI". Los cuales estuvieron en condiciones ambientales controladas, temperatura de 21° C (\pm 2° C), buena ventilación, ciclo de luz - oscuridad de 12 X 12 horas y agua y alimento *ad libitum* (*). Con el fin de que la muestra de animales utilizados tuviera un estado endocrino semejante, fueron pretratadas 48 horas antes del sacrificio con 10 μ g / kg por vía intra peritoneal con 17 β -estradiol disuelto en aceite de maíz. (Sigma). Se utilizaron solo los animales en fase de estro, el cual fue corroborado por medio de frotis citológico.

Reactivos

- El estrógeno 17 β -estradiol fue de los laboratorios Sigma, Chemical Co.(St. Louis Mo.)
- Las sales utilizadas para las soluciones Ringer Krebs Normal (RKN), Ringer Krebs Potasio 60 mM (RKP) despolarizante y las soluciones con diferentes concentraciones de K⁺, fueron grado reactivo de los laboratorios Sigma, Chemical Co.(St. Louis Mo.)
- El xantorrizol fue proporcionado por la Unidad de Investigación Médica en Farmacología del Centro Médico Nacional, "Siglo XXI" del IMSS. Se disolvió el xantorrizol en una mezcla de solventes formada por dos partes de dimetilsulfóxido y cinco partes de etanol (DMSO: Et-OH 2:5). Se adicionaron las diferentes concentraciones de xantorrizol al baño de incubación de tejidos en un volumen de 20 μ l de solvente. Los 20 μ l del vehículo sin xantorrizol no modificó la actividad contráctil de los tejidos, inducida por la solución despolarizante de K⁺ (60 mM).

Soluciones

En el **cuadro 4** se enlista la composición de las soluciones.

Se utilizó agua bidestilada como solvente para preparar las soluciones.

(*) Formulab diet #5008. PMI Feeds, Inc. (St.Louis. Mo)

Diseño Experimental

Obtención y montaje del tejido.

Las ratas se sacrificaron por medio de la administración de una sobredosis de pentobarbital sódico (**), evitando al máximo el sufrimiento de los animales de acuerdo con las recomendaciones del Reglamento para el Cuidado de los Animales de la FMVZ de la UNAM.⁽⁵⁰⁾

El útero se extrajo de la cavidad y se depositó en un frasco con solución Ringer Krebs normal a 20 ° C. La solución se ajustó a un pH de 7.4 con un burbujeo constante por 15 minutos de una mezcla gaseosa de 5 % CO₂ en 95 % de O₂. En esta solución el tejido se transportó del bioterio al laboratorio. En el laboratorio el tejido uterino se colocó en una caja de petri conteniendo también solución Ringer normal a temperatura ambiente, donde se limpió cuidadosamente de tejido adiposo y conjuntivo. De la parte media de cada cuerno uterino se tomaron dos segmentos de 10 mm de longitud, se usó una lámpara con lupa especial para facilitar el minucioso manejo de las secciones de tejido, de cada rata se aislaron cuatro anillos uterinos (10 mm de longitud). **Figura 10**

Cada segmento uterino se colocó en una cámara de tejidos aislados, la cual es un sistema de registro isométrico convencional, que consiste en una cámara de vidrio de 5 ml de volumen, con una chaqueta para conservar la temperatura constante a 37 ° C.

Mediante el empleo de un hilo de seda (0000) se sujetó un extremo del tejido al tapón de la base de la cámara y el otro extremo del tejido se unió a través del hilo de seda a un transductor de tensión FT03. **Figura 11**

La tensión final se dio con un tensor provisto de un tornillo milimétrico adjunto al transductor. Con el objeto de mantener funcional al tejido, se conservó durante todo el experimento a una temperatura de 37 ° C con burbujeo constante de una mezcla gaseosa de 5 % de CO₂ en O₂ sobre la solución Ringer.

(**) Sedalfhorte, Lab. Salud y Bienestar Animal.

La actividad contráctil de los anillos uterinos aislados de rata se midió en un sistema de registro isométrico convencional, constituido por un transductor de tensión FT 03 conectado a un polígrafo GRASS modelo 7B.

Una vez montados los tejidos, fueron tensionados a 1 gramo. Se dejaron estabilizar durante una hora, cambiando la solución Ringer Krebs Normal cada 10 minutos; la tensión de 1 gramo se mantuvo durante todo el experimento.

Al finalizar la estabilización del tejido, se colocaron las pajillas del polígrafo en posición basal. Fue importante asegurarse de tener una buena amplitud del trazo de la pajilla para evitar que la señal no quedara bloqueada y se pudiera observar el verdadero comportamiento del tejido.

Prueba de viabilidad

Posteriormente se comprobó la viabilidad del tejido, la que se define como, la capacidad de dicho tejido de producir una respuesta de contracción similar y reproducible por lo menos dos veces, aplicando solución Ringer Krebs con KCl 60 mM, este procedimiento se realizó tres veces para comprobar que las respuestas fueran iguales y que el tejido era viable para el experimento. Los tejidos que no cumplieron con esta condición se desecharon.

Clasificación de tratamientos experimentales y control

Se hicieron 5 grupos de tejidos, cada uno con 12 anillos uterinos como mínimo. El grupo 1 fue el control, en ausencia de xantorizol. Los 4 grupos restantes fueron los tratamientos experimentales sometidos a diferentes dosis de xantorizol.

Grupo 1. Control.

A este grupo de anillos uterinos se les añadió concentraciones crecientes de KCl (5,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 mM), se graficaron las respuestas contráctiles obtenidas en cada concentración, entendida como la respuesta Máxima (R_{max}) en la curva concentración respuesta.

Grupo 2. Xantorrizol 3 μg / ml

El segundo grupo se preincubó a 37 °C con xantorrizol 3 μg / ml por 20 minutos, el cual se agregó al baño de incubación. Posteriormente, se añadieron las concentraciones crecientes de KCl (5,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 mM), las respuestas contráctiles de cada concentración se obtuvieron hasta que estas alcanzaron su mayor rango.

Grupo 3. Xantorrizol 10 μg / ml

El tercer grupo se preincubó a 37 °C con xantorrizol 10 μg / ml por 20 minutos, el cual se agregó al baño de incubación. Posteriormente, se añadieron las concentraciones crecientes de KCl (5,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 mM), las respuestas contráctiles de cada concentración se obtuvieron hasta que estas alcanzaron su mayor rango.

Grupo 4. Xantorrizol 30 μg / ml

El cuarto grupo se preincubó a 37 °C con xantorrizol 30 μg / ml por 20 minutos, el cual se agregó al baño de incubación. Posteriormente, se añadieron las concentraciones crecientes de KCl (5,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 mM), las respuestas contráctiles de cada concentración se obtuvieron hasta que estas alcanzaron su mayor rango.

Grupo 5. Xantorrizol 100 µg / ml

El quinto grupo se preincubó a 37 °C con xantorrizol 100 µg / ml por 20 minutos, el cual se agregó al baño de incubación. Posteriormente, se añadieron las concentraciones crecientes de KCl (5,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 mM), las respuestas contráctiles de cada concentración se obtuvieron hasta que estas alcanzaron su mayor rango. **Cuadro 5**

Se determinó la concentración efectiva 50 (DE₅₀) y la respuesta máxima (R_{max}) de cada una de las curvas construidas antes mencionadas.

Las respuestas contráctiles inducidas por las diferentes concentraciones de K⁺ se midieron como el área bajo la curva por medio de un planimetro. El área bajo la curva incluye la amplitud, la frecuencia y la duración de la respuesta contráctil durante un periodo de 10 minutos. Se tomó como la respuesta del 100% la inducida por una solución despolarizante de K⁺ 60 mM.

Las respuestas contráctiles inducidas por las diferentes concentraciones de K⁺ se expresaron en porcentaje con relación a la respuesta del 100% inducida por K⁺60 mM. Cada punto de la curva representa el valor promedio de 12 observaciones (12 anillos provenientes de 3 ratas), las barras verticales representan el error estándar de la media (± EE).

Análisis Estadístico.

Los valores obtenidos se representaron como el promedio y el error estándar de la media (E.E.) de una n =12 (Gráficas). Los valores de las CE₅₀ representaron el promedio y el error estándar de la media expresado en (µg/ml) de xantorrizol. Los valores de la R_{max} representaron el promedio y el error estándar de la media (EE) expresado en % de una n = 12.

Estos valores se contrastaron por medio de una prueba de t de Student tomando como diferencias significativas valores de p < 0.05.

Los valores de la CE₅₀ y de la R_{max} se determinaron por medio del programa Sigma Plot.

6. RESULTADOS

Prueba de viabilidad.

Los anillos uterinos aislados de ratas estrogenizadas respondieron de manera repetitiva a un mismo estímulo de solución despolarizante de KCl 60 mM, esta característica del tejido aseguró la reproducibilidad de los experimentos. La diferencia máxima en porcentaje comprendida entre las tres curvas de la **figura 12** no debió ser mayor del 10%.

Grupo 1 control.

Curva concentración respuesta a KCl (5,10,20,30,40,50,60,70 mM) .

Las soluciones despolarizantes de KCl produjeron aumento de la contracción de los anillos uterinos aislados de ratas estrogenizadas en forma dependiente de la concentración. La preincubación de los tejidos con el solvente (DMSO: Et- OH 2:5) por 20 minutos no modificó significativamente la CE_{50} ni la R_{max} de la curva concentración respuesta al KCl. La CE_{50} fue de $32.72 \pm 1.05 \mu\text{g/ml}$ y la R_{max} de $101.57 \pm 3.61 \%$.

Gráfico 1, cuadro 6.

Grupo 2. KCl 3 $\mu\text{g/ml}$ de xantorrizol

La incubación de los anillos uterinos con 3 $\mu\text{g/ml}$ de xantorrizol, modificó la curva concentración respuesta inducida por las soluciones despolarizantes con diferentes concentraciones de KCl. Se observó un desplazamiento hacia la derecha de la curva de KCl, no se modificó en forma significativa la CE_{50} ($p > 0.05$) sin embargo, se modificó significativamente la R_{max} ($p < 0.05$). La CE_{50} fue de $31.75 \pm 1.03 \mu\text{g/ml}$ y la R_{max} fue de $71.40 \pm 2.9 \%$ **Gráfico 2, cuadro 6.**

Grupo 3. KCl 10 µg/ml de xantorrizol

La incubación de los anillos uterinos con 10 µg/ml de xantorrizol, modificó la curva concentración respuesta inducida por las soluciones despolarizantes con diferentes concentraciones de KCl. Se observó un desplazamiento hacia la derecha de la curva de KCl, no se modificó en forma significativa CE_{50} ($p > 0.05$) sin embargo, se modificó significativamente la R_{max} ($p < 0.05$). La CE_{50} fue de 35.23 ± 1.45 µg/ml y la R_{max} fue de 52.09 ± 1.88 %. **Gráfico 3, cuadro 6.**

Grupo 4. KCl 30 µg/ml de xantorrizol

La incubación de los anillos uterinos con 30 µg/ml de xantorrizol, modificó la curva concentración respuesta inducida por las soluciones despolarizantes con diferentes concentraciones de KCl. Se observó un desplazamiento de la curva de KCl hacia la derecha, se modificó en forma significativa la CE_{50} ($p < 0.05$) y también se modificó significativamente la R_{max} ($p < 0.05$). La CE_{50} fue de 40.85 ± 1.80 µg/ml y la R_{max} fue de 33.71 ± 2.69 %. **Gráfico 4, cuadro 6.**

Grupo 5. KCl 100 µg/ml de xantorrizol

La incubación de los anillos uterinos con 100 µg/ml de xantorrizol, modificó la curva concentración respuesta inducida por las soluciones despolarizantes con diferentes concentraciones de KCl. Se observó un desplazamiento hacia la derecha de la curva de KCl, no se modificó en forma significativa CE_{50} ($p > 0.05$), sin embargo, se modificó significativamente la R_{max} ($p < 0.05$). La CE_{50} fue de 37.94 ± 1.76 µg/ml y la R_{max} fue de 14.69 ± 2.17 %. **Gráfico 5, cuadro 6.**

7. DISCUSIÓN

El presente estudio demostró que el xantorizol, compuesto aislado de la planta medicinal *Iostephane heterophylla*, posee un efecto antiespasmódico dependiente de su concentración, sobre la contracción del músculo liso uterino inducida por soluciones despolarizantes de KCl (5,10,20,30,40,50,60,70 mM).

Cuando se utilizan tejidos de músculo liso uterino a los cuales se les comprueba su viabilidad, se aseguran respuestas reproducibles, en comparación de cuando no se seleccionan los tejidos por medio de una prueba de viabilidad; sobre todo en tejidos cuya actividad es dependiente del estado endocrino del animal.

Como ya es conocido, Granger y col 1986, las soluciones despolarizantes de KCl inducen aumento de la actividad contráctil del músculo liso uterino en forma dependiente de la concentración de K^+ y también en la forma dependiente de la concentración de Ca^{2+} intracelular. Los resultados de la curva concentración respuesta a diferentes concentraciones de KCl (5,10,20,30,40,50,60,70 mM) obtenidos en este trabajo, confirman lo reportado en la literatura.⁽⁵⁰⁾

La información que hasta el momento se tiene de la literatura relacionada con productos aislados de plantas medicinales no reporta el efecto del xantorizol sobre el músculo liso uterino, sin embargo, de acuerdo con los reportes etnofarmacológicos se presume que los componentes de la planta *Iostephane heterophylla* tiene acción antiespasmódica sobre la musculatura lisa.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que el xantorizol principal compuesto aislado de la planta medicinal *Iostephane heterophylla* tiene efecto antiespasmódico sobre el acoplamiento electromecánico del músculo liso uterino. De acuerdo con los resultados y las curvas de las gráficas parece que el efecto antiespasmódico del xantorizol sobre el músculo liso uterino es similar a una acción antagonista de tipo no competitivo, ya que la presencia del xantorizol hizo que las curvas

se desplazarán a la derecha y se inclinarán hacia el eje de las X, modificando en forma significativa la R_{max} . El efecto antiespasmódico del xantorrizol puesto de relevancia en este trabajo puede tener varias explicaciones:

Fuera de la célula de músculo liso uterino:

- 1) Disminuyendo la entrada de Ca^{2+} por bloqueo de las vías de entrada de Ca^{2+} sensibles al voltaje (canales lentos de Ca^{2+}). Al limitar la entrada de Ca^{2+} se produce la reducción de la concentración de Ca^{2+} intracelular $[Ca^{2+}]_i$; esto resulta en un rompimiento del complejo Ca^{2+} - Calmodulina, en la desactivación de la cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK) y en consecuencia en la relajación del tejido.
- 2) Por aumento de la actividad de la ATPasa $Ca^{2+} Mg^+$ de la membrana plasmática que saca iones calcio del interior de la célula, provocando la disminución de la concentración Ca^{2+} intracelular.
- 3) Por aumento de la actividad del intercambiador $Na^+ - Ca^{2+}$ el cuál mantiene el gradiente de concentración de estos iones a uno y a otro lado de la membrana, sacando el Ca^{2+} intracelular y permitiendo la entrada del ion Na^+ del medio extracelular. El incremento de su actividad resultaría en la disminución de la concentración del Ca^{2+} intracelular.

Dentro de la célula de músculo liso:

- 4) Por aumento de la toma de Ca^{2+} por la ATPasa $Ca^{2+} Mg^+$ embebida en la membrana del retículo sarcoplásmico. El incremento de la toma Ca^{2+} por la ATPasa $Ca^{2+} Mg^+$ provocaría la disminución de la concentración del Ca^{2+} intracelular.
- 5) Por estimulación de la actividad de la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina que desfosforila a la MCL, la cuál desfosforilaría al complejo actina - miosina induciendo la relajación del tejido

Como se dijo anteriormente en la literatura no existe referencia de la interacción del xantorizol sobre algunos de estos sitios del acoplamiento electromecánico, sin embargo, sí existe información de diversas sustancias obtenidas de plantas que producen un efecto relajante sobre la musculatura lisa uterina y que se ha propuesto que actúan bloqueando la entrada de Ca^{2+} operada por voltaje. **Cuadro 7**

Por lo tanto podría ser atribuido el efecto antiespasmódico del xantorizol a su efecto sobre las vías de entrada de Ca^{2+} sensibles al voltaje; localizados en la membrana plasmática de las células miométriales. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para descartar la participación de otros factores en el efecto antiespasmódico del xantorizol sobre la musculatura lisa uterina.

Debido a que la contracción de músculo liso uterino inducida por soluciones despolarizantes de alto K^+ son dependientes del Ca^{2+} extracelular, como lo ha demostrado Garner (1986), es muy probable que la sustancia que se estudió disminuya la entrada de Ca^{2+} al interior de la célula de músculo liso uterino y de esta forma ejerza su acción antiespasmódica.

8.-CONCLUSIONES

Se concluye que el xantorizol tiene un efecto antiespasmódico sobre el acoplamiento electromecánico en el útero aislado de rata sensibilizada con estrógenos; sin embargo, no se conoce con precisión el mecanismo de acción; debido a esto se proponen posteriores estudios que demuestren el mecanismo de acción de este compuesto, que se aisló de la planta medicinal *Iostephane heterophylla* y que forma parte del complejo "cachani".

LITERATURA CITADA

1. Díaz JL. Índice y sinonimias de las plantas medicinales de México. 1ª ed. México: Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales 1976.
2. Martínez M. Flora Medicinal del Estado de México. Gobierno del Estado de México Dirección de Recursos Naturales. Toluca México 1978.
3. Selecciones del Reader's Digest. Plantas Medicinales. Virtudes insospechadas de plantas conocidas. 1ª ed. México: Reader's Digest México, 1987.
4. De la Cruz M. Libellus de medicinalibus inderun inderum herbis. Manuscrito Azteca de 1559. México: IMSS 1964.
5. Duraffourdi C, Hervicourti LD, Lapras JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. España: Masson 1986.
6. Chimal HA, Hernández VN, Santoyo PF. Las plantas medicinales y su uso tradicional en el ejido "Paraiso" Tuxtépec" Oaxaca. UAM. 1 era de. Unidad Xochimilco. División de ciencias básicas y de la salud. México 1993
7. Hernández ML, Rodríguez LT, Alcibar MM. Estudio Fitoquímico preliminar de algunas plantas medicinales de la Huasteca Potosina. Primer Congreso Nacional de Plantas Medicinales de México. Tlaxcala 1996; 59
8. Secretaría de Salud. La investigación científica de la herbolaria Medicinal Mexicana. México: Secretaría de Salud 1993.
9. Rodríguez J. Castillo R, Cerón A Estudio Fitoquímico biodirigido de extractos de 4 plantas medicinales del municipio de Epazoyucan. Primer Congreso Nacional de Plantas Medicinales de México., Hgo.. Tlaxcala 1996; 59
10. Williamson EM, Okpako DT, Evans FJ. Pharmacology Methods in Phytotherapy Research. Volumen 1. Singapore: John Wiley and Sons. 1996.

11. Bye R. Medicinal plants of the Sierra Madre: Comparative Study of Tarahumara and Mexican Market Plants. *Economic Botany* 1986; 40: 103-124.
12. Bye R. Medicinal Plants of the Tarahumara Indians of Chihuahua. A multidisciplinary Study. Tyson, R.A and Elerick, D.V. 1985; 77
13. Aguilar LI. Estructura molecular y bioactividad de los Terpenoides, Fenoles, Esteroides y Glicosidos Presentes en *Iostephane heterophylla*. (Tesis de Doctorado). Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México, 1997.
14. Delgado G, García PE, Bye R, Linares E. Eremophilanolides from *Roldana sessilifolia* *Phytochemistry* 1991; 30 (5); 1716-1719.
15. Linares E, Bye R. A study of four medicinal plant complexes of Mexico and adjacent United States. *Journal of Ethnopharmacology* 1987; 19:153-183.
16. Ponce MH. Efecto no- genómico de hormonas y antihormonas esteroides sobre el acoplamiento excitación - contracción del útero aislado de rata (Tesis de Doctorado). Tlaxcala México: CINNESTAV. Universidad Autónoma de Tlaxcala, 1997.
17. http://beta.semarnap.gob.mx/pfnm/Iostephane_heterophylla.html (7-19-01)
18. Aguilar MI, Delgado-G, Byes R, Linares E. Bisabolenos, polycyclic diterpenoids and other constitutens from the roots of *Iostephane heterophylla*. *Phytochemistry* 1993; 33:5, 1161-1163.
19. INI. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Tomo 11, 1ª Ed. México. 1994.
20. Cronquist A. An Integrated system of classification of flowering plants. U.S.A.: Columbia 1981.
21. Domínguez XA. Metodos de investigación fitoquímica. 1ª ed. México: Limusa 1973.
22. Aguilar MI, Delgado G. Novel Bisabolene, glycoside and other constituents from roots of the medicinal plant *Iostephane heterophylla*. *Natural Products*. 1995; 7: 155-162

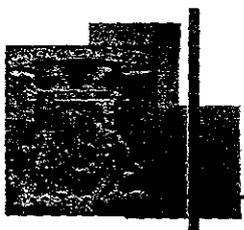
23. Chapman and Hall. Dictionary of Natural Products. Chemical Data Base. Volume 1 A-C. 1ª ed. Cambridge: Great Britain at the University 1994.
24. Kojima H, Yanai T, Toyota A. Essential oil constituents from Japanese and Indian *Curcuma aromatica* rhizomes. *Planta Medica* 1998; 64: 380-381.
25. Guyton A. Tratado de Fisiología Médica. 8ª ed. España: Interamericana 1991.
26. Muñoz MJE, García X. Fisiología. Células órganos y sistemas, Unidad 1. México: Ediciones científicas universitarias 1998.
27. Murray RK, Mayes PA. Bioquímica de Harper. 14ª ed. México: Manual Moderno 1998
28. Darnett J, Lodish H, Baltimore D. Biología celular y Molecular. 2ª ed. España: Omega. 1993
29. Cunningham JG. Fisiología Veterinaria. 2a ed. México: Mc Graw-Hill 1997
30. West J.B. Bases fisiológicas de la práctica médica. 12 ed. Argentina: Panamericana 1993.
31. Boya VJ. Atlas de Histología y organografía microscópica. España: Panamericana 1996.
32. Campos BP. Efecto de la exposición al ozono sobre la actividad contráctil del útero de rata. (Tesis de Maestría). México: Facultad de Ciencias. UNAM. 1995
33. Eckert R, Randall D, Augustine O. Fisiología Animal. Mecanismos y adaptaciones. 3ª ed. España: Interamericana - Mc Graw Hill 1990.
34. Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature* 1998; 372: 331-236
35. Campos BP. Efecto de los caurenos aislados de *Montanoa spp.* sobre el útero de rata *in vitro*. (Tesis de Licenciatura). México: Facultad de Ciencias. UNAM. 1991

36. Godínez AL. Determinación *in vitro*, del efecto antihistaminico del epazote (*Teloxys ambrosoides*) en sus extractos hidrosoluble y liposoluble sobre tejido uterino estrogenizado de cobayos hembras vírgenes. (Tesis de Licenciatura). México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1991
37. Low AM, Lang RD, Daniel EE. Influence of internal calcium stores on calcium - activated membrane currents in smooth muscle. *Biology Signals* 1993; 2:263-271.
38. Lehninger AL, Nelsson DL, Michael MC. Principles of Biochemistry. 2ª ed. USA: Worth Publishers 1993.
39. Petrov GV, Boer KK. Control of the phasic and tonic contractions of guinea pig stomach by a ryanodine - sensitive Ca^{2+} store. *European Journal of Pharmacology* 1999; 367:335-341.
40. Ozaki H, Karaki H. Different Ca^{2+} sensibiity in phase and tonic tupes of smooth muscles. *Biology Signals* 1993; 2:253-262.
41. Fawcett. MD. Tratado de Histología. 11ª ed. México DF: Interamericana 1990.
42. Wynn RM. Biology of the uterus. 2nd ed. USA: Plenium 1977.
43. Campos LG. Respuesta contráctil a serotonina del útero aislado de rata: regulación estrogénica y dependencia del calcio extracelular. (Tesis de Maestría) México: Facultad de Ciencias. UNAM. 1995
44. Netter FH. Colección ciba de ilustraciones médicas. Tomo II. 4ª ed. España: Salvat 1979.
45. Junqueira LC, Carneiro J. Histología Básica. 3ª ed. España: Salvat 1987.
46. Bruce A, Bray D, Lewis L. Molecular Biology of the Cell. 3a ed. USA: Garland Publishing. 1994.

47. Campos MG, Oropeza MV, VillanuevaT, Aguilar MI, Delgado G, Ponce HA. Xanthorrhizol induces endothelium - independent relaxation of rat thoracic aorta. Life Science 2000; 67: 327-333.
48. Ponce M, Giron H, Lozoya X, Enriquez RO. Zoapatle. Part 3 Biological and uterotonic propenties of aqueous plant extract. Contraception 1983; 27: 239-253.
49. García SA. Fisiología Veterinaria. 1ª ed. España: Interamericana 1995.
50. Aluja S.Aline. Reglamento para el cuidado de los animales en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México 1988
51. Granger SE, Hollingsworth M. Effects of calcium entry blockers on tension development and calcium influx in rat uterus. Journal Farmacology 1986; 87: 147-156.
52. Heywood V. and Syng H. Conservation of Medicinal Plants. Cambridge: Olayiwola 1991
53. Amos S., Okwuasaba FK., Gamaniel K., Akah P., Wambebe C. Inhibitory effects of the aqueous extracts of *Pavetta crassipes* leaves on gastrointestinal and uterine smooth muscle preparations isolated from rabbits, guinea pigs and rats. Journal of Ethnopharmacology 1998; 61: 209-213
54. Vongtau HO, Amos S, Binda L, Kapu SD, Gamaniel KS, Kunle OF, Wambebe C. Pharmacological effects of the aqueous extract of *Neorautanemia mitis* in rodents. Journal of Ethnopharmacology 2000; 72: 207-214
55. Afifi FU, Khalil E, Abdalla S. Effect of isorientin isolated from *Arum palaestinum* on uterine smooth muscle of rats and guinea pigs. Journal of Ethnopharmacology 1999; 65:173-177
56. Revuelta MP, Cantabrana B, Hidalgo A. Mechanisms involved in Kaempferol–induced relaxation in rat uterine smooth muscle. Life Sciences 2000; 67: 251-259

57. Campos LG, Ponce MH, Pedrón N, Valencia A, Fuentes V. Zoapatle. Parte 16. Effect of two derivatives of kaurenoic acid isolated from *Montanoa frutescens* on rat and guinea pig uterus. International Journal Crude Drug Research 1990; 28: 61-65.
58. Calixto JB. Effect of diphenylhydantoin on drug and calcium induced contraction of isolated rat uterus: A comparative study with nifedipine. General. Pharmacology 1987; 18: 237
59. Ivorra MD, Martinez F, Serrano A, D'Ocon. Different mechanism of relaxation induced by apomorphine alkaloids in rat uterus. Journal of Pharmacology 1993; 45:439-443
60. Sing HM, Sharma PL. Effect of phosphodiesterase regulators on prostaglandin evoked responses in isolated rat uterus. Indian Journal of Experimental. Biology 22: 637-644 1989.
61. D'Ocon P, Blazquez MA, Bermejo A, Anselmi E. Tetrandrine and sotetrandrine two bisbenzyl tetra hidro isoquinoline relaxant activity. Journal of Pharmacology 1992; 44:579-582
62. Anselmi E, Fagos G, Blasco. Selective inhibition of calcium entry induced by benzyloisoquinolines in rat smooth muscle. Journal Pharmacology 1992; 44:337-343
63. Bejar E, Enriquez R, Lozoya X. In vitro effect of grandiflorenic acid and zoapatle aqueous crude upon spontaneous contractility of the rat uterus during estrus cycle. Journal of Ethnopharmacology 1984; 11: 87-97.
64. Enriquez RG, Bejar E, Lozoya X. Role of kauradenoic acid and its methyl ester on the effect elicited by *Montanoa tomentosa* upon the uterine contractility *in vitro*. Arch of Invest Medicine 1984; 15:236-238

65. Ponce MH, Campos LG, Pedrón N, De la Torre L, Villanueva T, Gallego A, Romo de Vivar A, Azpeitia E. The zoapatle XV. Activity of 16 α -hidroxy-ent-kauran-19-oic acid isolated from Montanoa, Hibiscifolia, and its methyl ester on rat and guineapig uterus. *Journal of Ethnopharmacology* 1988; 24 :127-133
66. Putney JW. *Capacitative Calcium Entry*. USA: Chapman and Hall 1997.



FIGURAS

CUADROS

GRAFICAS



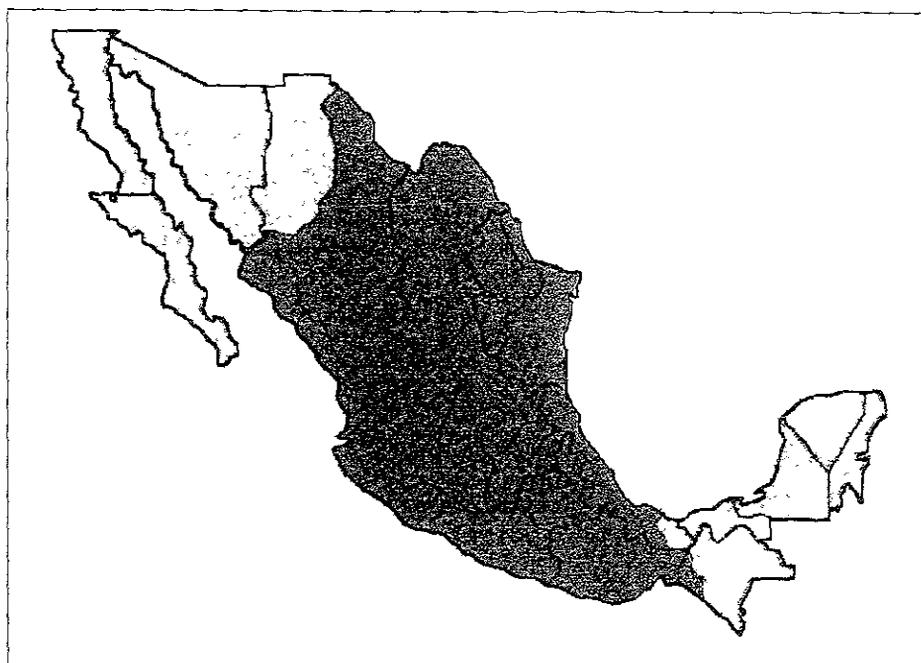


FIGURA 1. Distribución de la planta medicinal *Iostephane heterophylla* en los Estados Unidos Mexicanos. La cual abarca desde el noreste del estado de Chihuahua al sur de Oaxaca.

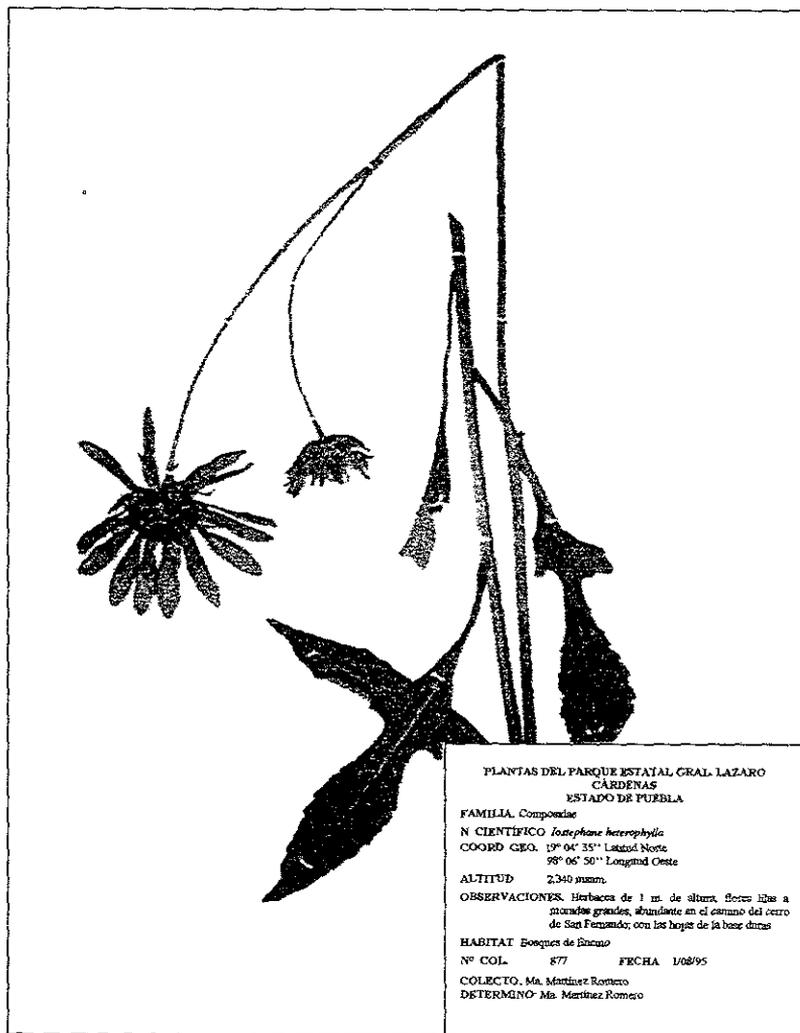


FIGURA 2. Especimen de *Iostephane heterophylla*, colectado en el estado de Puebla. Muestra perteneciente al herbario del Instituto de Biología, MEXE, de la UNAM.

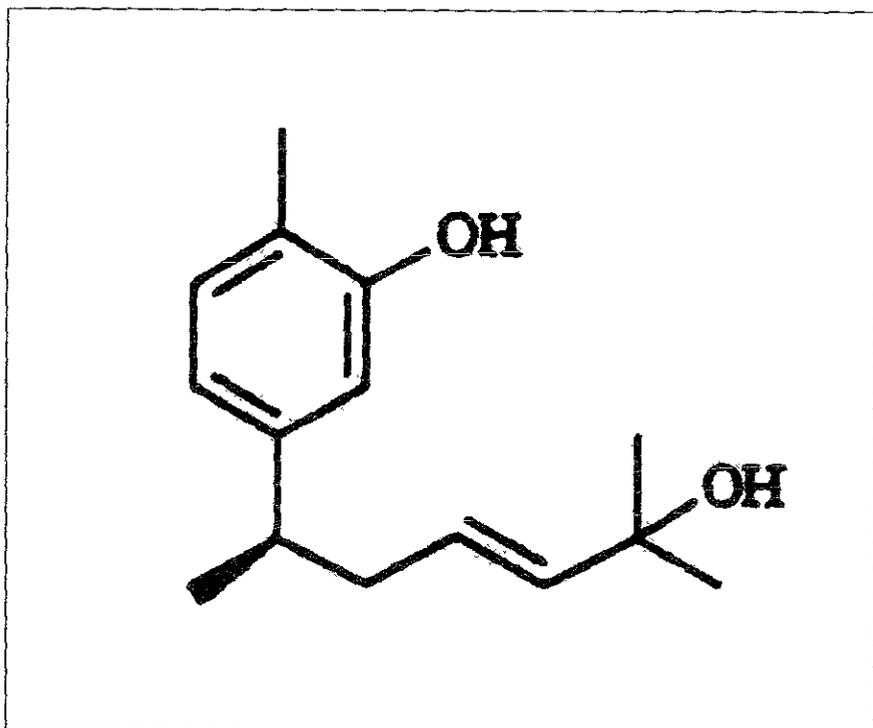


FIGURA 3. De la raíz de la planta medicinal, *Iostephane heterophylla*, fueron aislados en 1993 por Aguilar y col, varios componentes pertenecientes a la familia de los bisabolenos. El xantorizol fue el compuesto que se aisló en mayor proporción, presentó un rendimiento total del 0.43%. Este compuesto presenta un peso molecular de 218 y una fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_2$.

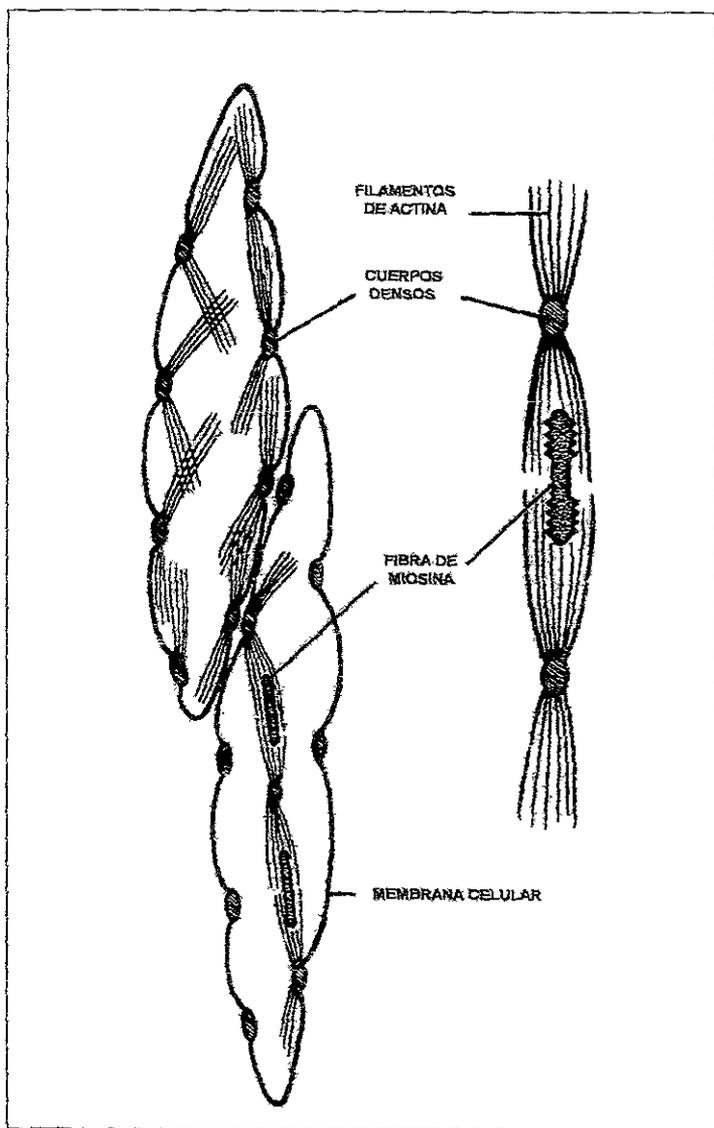


FIGURA 4. Células de músculo liso uterino: fusiformes, con núcleo central. Las dos proteínas principales son la actina, que forma los filamentos delgados, y la miosina, que forma los filamentos gruesos. Los filamentos finos se unen a áreas electrodensas de la membrana llamadas cuerpos densos equivalentes a las líneas Z del músculo esquelético. Modificado de Guyton ⁽²⁵⁾.

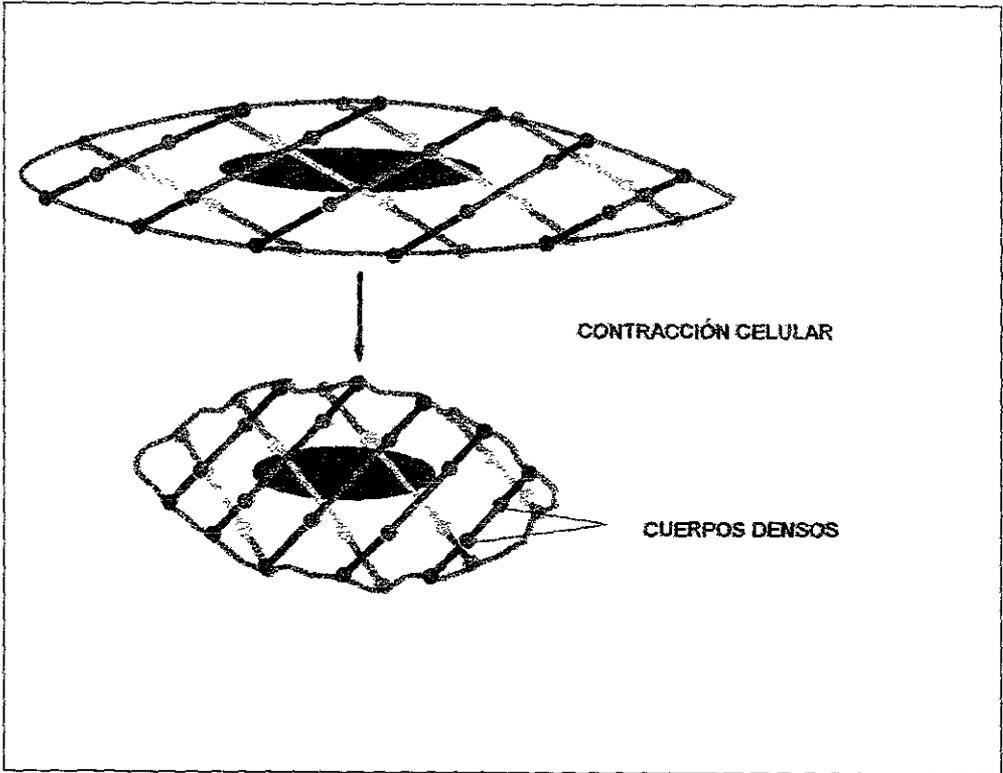


FIGURA 5. Contracción de la célula de músculo liso. El desplazamiento de filamentos finos de actina y gruesos, miosina; ejerce tensión sobre los cuerpos densos y acorta la célula. Modificado de Bruce A.⁽⁴⁶⁾

CARACTERÍSTICAS DE LOS MECANISMOS CONTRÁCTILES DEL MÚSCULO LISO

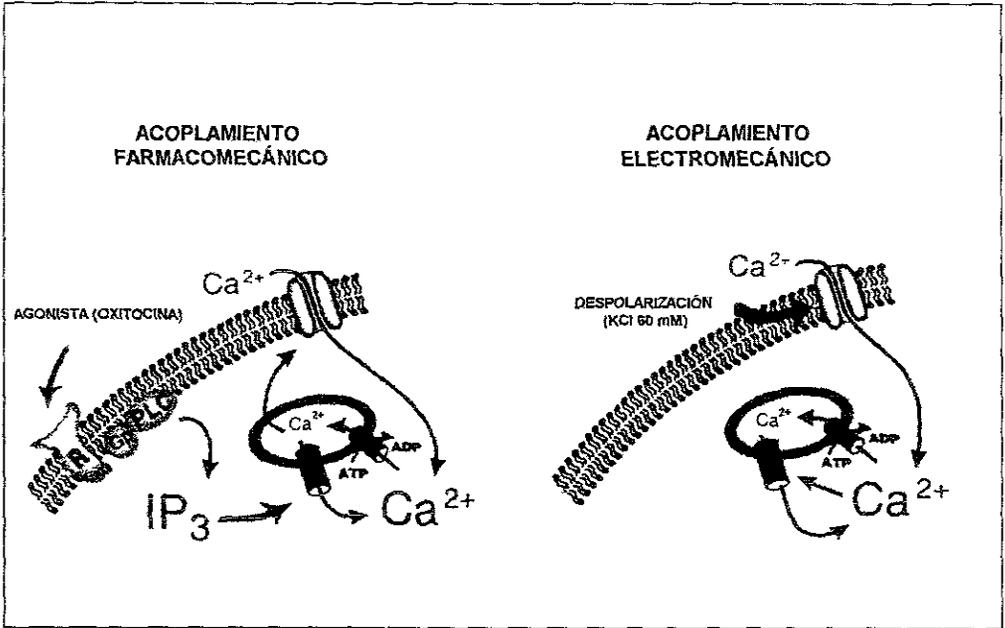


FIGURA 6. Representación de las características del acoplamiento farmacomecánico y electromecánico. En el acoplamiento farmacomecánico un agente agonista (oxitocina) interactúa con su receptor específico en la membrana plasmática produciendo la activación de proteínas presentes en la esta (proteína G, Gp; fosfolipasa C, PLC); dichas proteínas sintetizan la producción del segundo mensajero inositol trifosfato (IP₃), el cuál actúa sobre el retículo sarcoplásmico liberando Ca²⁺. El Ca²⁺ liberado estimula los canales de calcio presentes en la membrana induciendo la entrada de más Ca²⁺.

En el acoplamiento electromecánico, la contracción del músculo liso está mediada por la despolarización de la membrana celular (KCl 60 mM), que provoca aumento de la concentración de calcio intracelular por incremento en la difusión de este catión a través de los canales activados por el voltaje o por la inducción de la liberación de Ca²⁺ de almacenes intracelulares (retículo sarcoplásmico).

Modificado de Putney⁽⁶⁶⁾.

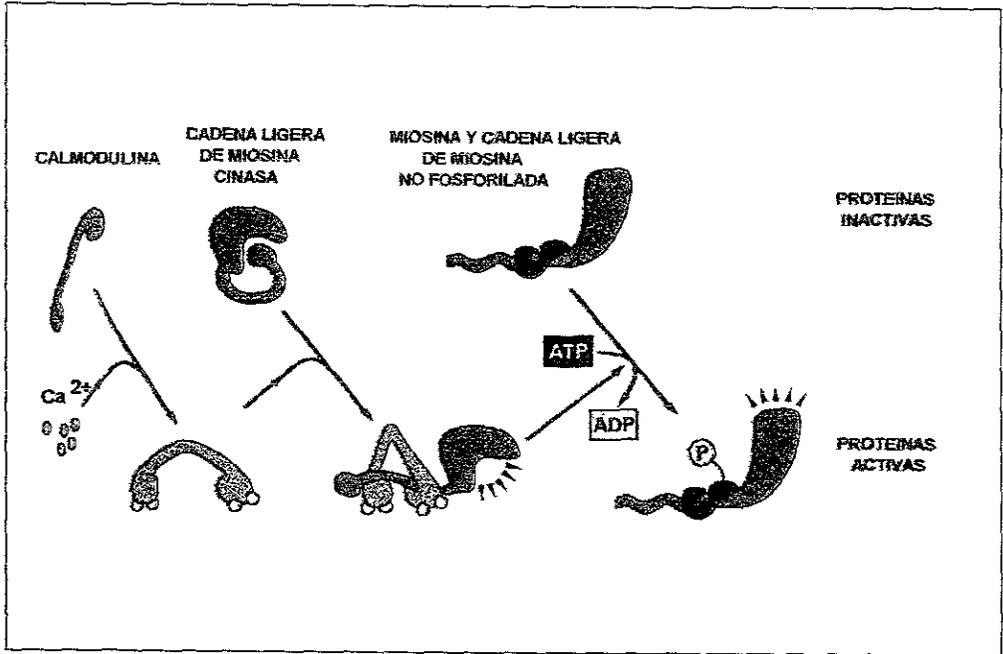


FIGURA 7. Mecanismos contráctiles en el músculo liso. Al aumentar la concentración intracelular de Ca^{+2} , este ion se une a la calmodulina, activando a la cadena ligera de miosina cinasa (MLCK), que a su vez fosforila a la miosina de cadena ligera (MCL), facilitando la interacción actina-miosina. Modificado de Bruce A.⁽⁴⁶⁾

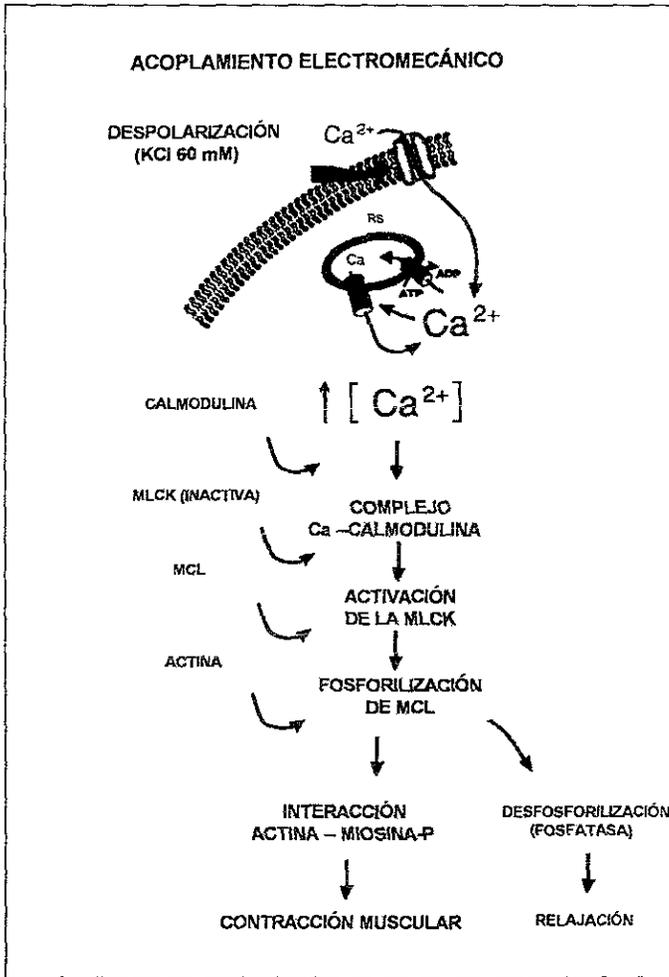


FIGURA 8. Esquema del acoplamiento electromecánico. Un estímulo químico (KCl 60 mM) produce la despolarización de la membrana celular, provocando el incremento del $[Ca^{2+}]_i$ de 10^{-7} a 10^{-5} M a través de los canales dependientes de voltaje, esto induce a la liberación de más iones Ca^{2+} procedentes del retículo sarcoplásmico (RS). El Ca^{2+} se une a la calmodulina, formando el complejo Ca^{2+} - calmodulina que activa a la cinasa de la cadena ligera de la miosina (MLCK) la cuál fosforila a la miosina de cadena ligera (MCL), se da entonces la interacción actina - miosina y la contracción muscular. La fosfatasa de la MCL desfosforila a la MCL provocando relajación.

Modificado de Putney JW. ⁽⁶⁶⁾

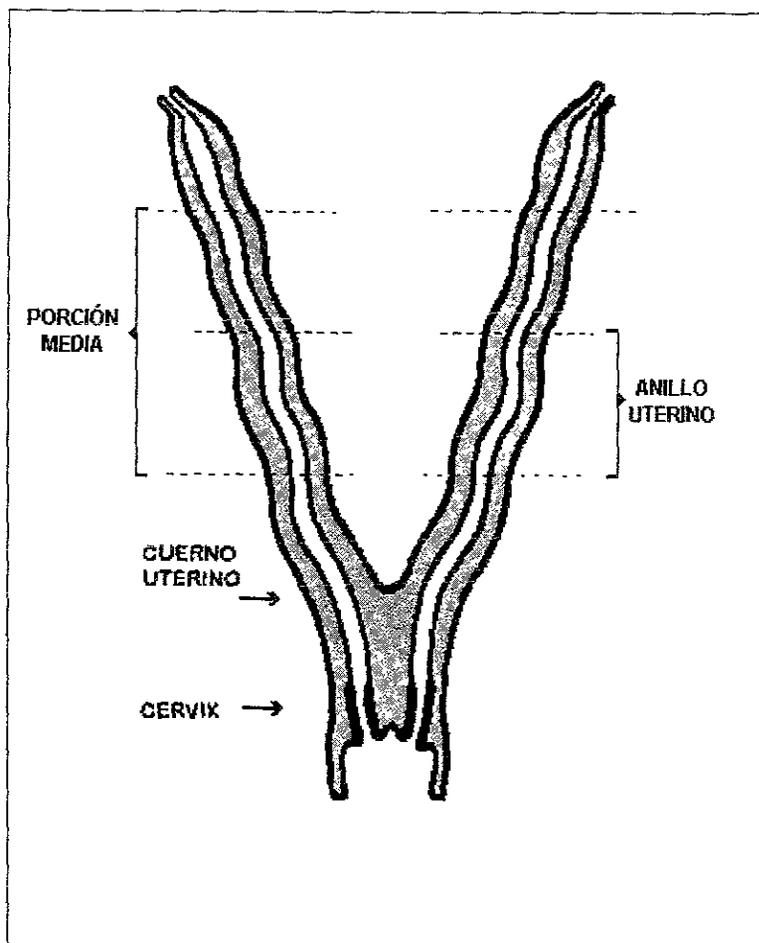


FIGURA 9. Diagrama de la vista frontal del útero de rata y del cérvix. El tejido uterino aislado de rata, se tomó de la porción media de los cuernos uterinos. Aisiéndose así cuatro anillos uterinos de 10 mm de longitud de cada útero.

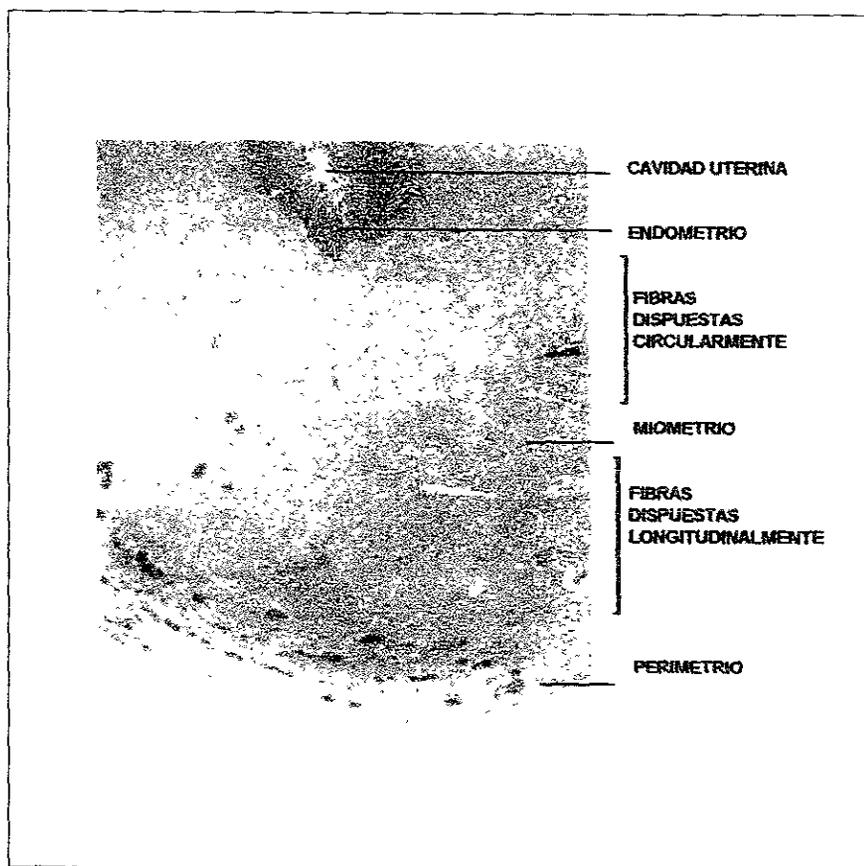


FIGURA 10. Corte histológico del útero. Constituido por 3 capas: **Endometrio**, conformado por epitelio y tejido conjuntivo; **Miometrio**, es la túnica más gruesa del útero conformado por fibras de músculo liso y **Perimetrio**, formado por tejido conjuntivo laxo.

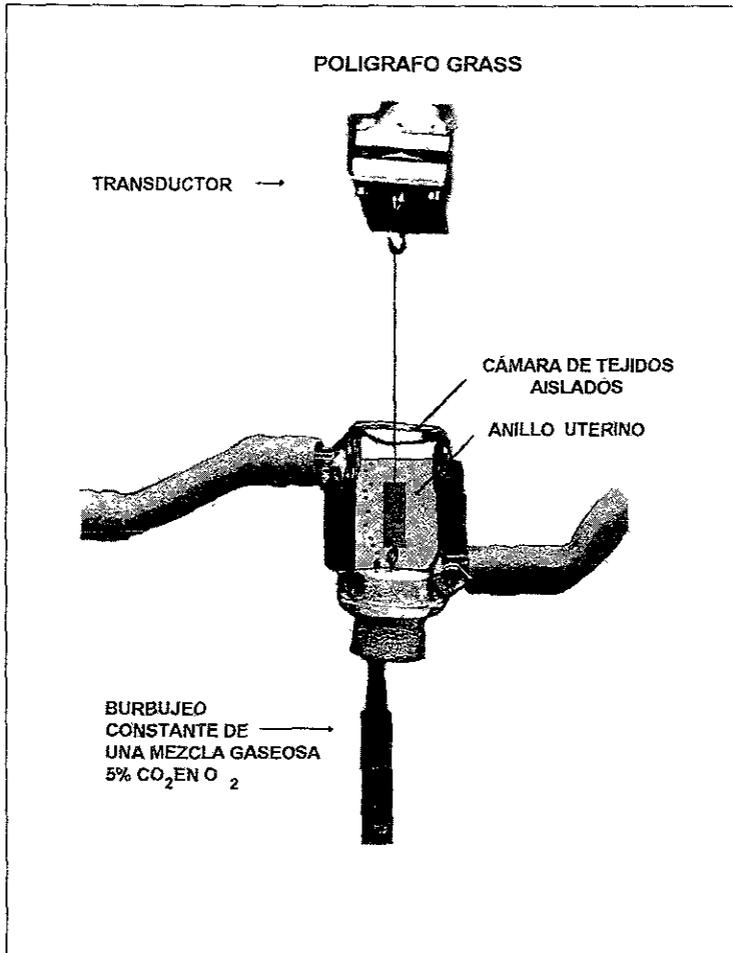


FIGURA 11. Montaje del anillo uterino en la cámara de tejidos aislados. El anillo uterino se encuentra en la solución de Ringer Krebs Normal a 37° C y esta provisto de una mezcla gaseosa compuesta por 5% CO₂ y 95% O₂.

ESQUEMA DE LA PRUEBA DE VIABILIDAD DE LOS TEJIDOS UTERINOS AISLADOS DE RATA

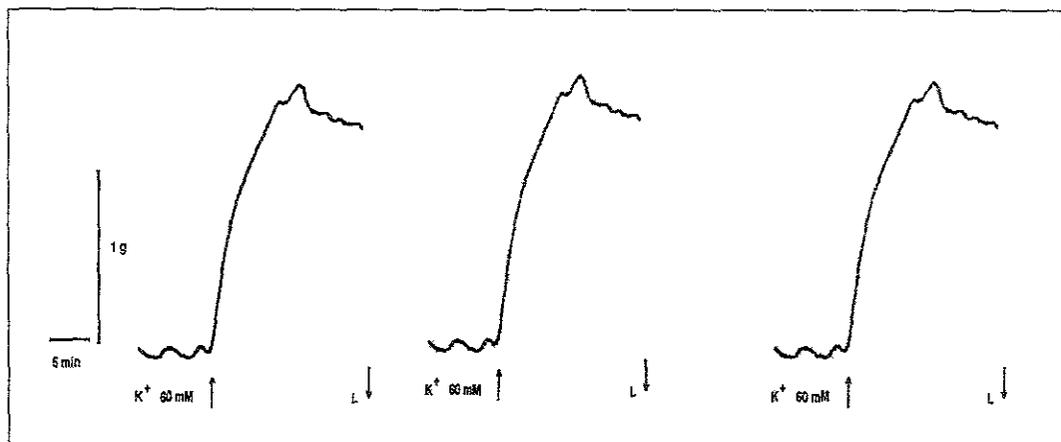


FIGURA 12. Los trazos muestran la respuesta contráctil de los anillos de útero aislados de ratas estrogenizadas ante un mismo estímulo de solución despolarizante de KCl 60 mM. Después de cada registro, el tejido fue lavado con solución Ringer Normal (L). La respuesta contráctil repetitiva es una característica que aseguró la reproductibilidad de los experimentos. La diferencia máxima en porcentaje comprendida entre las tres curvas fue del 10%. Los tejidos que no cumplieron con esta condición fueron desechados.

PRINCIPIOS ACTIVOS OBTENIDOS DE PLANTAS MEDICINALES		
Especie	Principio activo aislado	Efecto
<i>Ctharanthus roseus</i>	Vincristina Vinblastina	Antitumoral
<i>Chondodendrum tomentosum</i>	Tubocuararina	Relajante del músculo esquelético
<i>Cissampelos pareira</i>	Cissamperina	Relajante del músculo esquelético
<i>Dioscorea spp</i>	Diosgenin	Anticonceptivo
<i>Daphnegewa</i>	Yuanhuacina	Abortificante
<i>Papaver somniferum</i>	Noscapina Papaverina	Antitusivo Relajante muscular
<i>Adhatodavasica</i>	Vasicine (pegemine)	Oxitocínico
<i>Datura metel</i>	Escopolamina	Sedante

Cuadro 1. Ejemplos de algunos principios activos, obtenidos de plantas medicinales y su uso en la terapéutica.

PLANTAS MEDICINALES QUE CONSTITUYEN EL COMPLEJO "CACHANI"	
Nombre científico	Nombre común
<i>Iostephane madrensis</i>	Cachana, Kachana
<i>Iostephane heterophylla</i>	Hierba de oso, de manso, escorcionera etc.
<i>Liatris punctata</i>	Cachana
<i>Psacalium sp</i>	
<i>Roldana sessilifolia</i>	Cachani, cachan, cachane, monkeys, peyotl
<i>Potentilla sp.</i>	

Cuadro 2. Plantas medicinales que constituyen el complejo "cachani".

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>IOSTEPHANE HETEROPHYLLA</i>	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Compositae
Género	Iostephane
Especie	Iostephane heterophylla

Cuadro 3. Clasificación taxonómica de *Iostephane heterophylla*. Según Artur Cronquist, 1981 ⁽²⁰⁾

COMPOSICIÓN DE LAS SOLUCIONES										
Sustancia	Peso molecular (g)	Ringer Krebs Normal (mM)	Ringer Krebs de Potasio alto (mM)	Soluciones despolarizantes con diferentes concentraciones de potasio (mM)						
NaCl	58.44	118	62.75	113	103	93	83	73	63	53
KCl	74.56	4.75	60	10	20	30	40	50	60	70
MgCl ₂	246.50	1.2	1.2	1.2						
KH ₂ PO ₄	136.09	1.2	1.2	1.2						
NaHCO ₃	84.01	25	25	25						
CaCl ₂	147.02	1.8	1.8	1.8						
Glucosa	180.2	11	11	11						

Cuadro 4. Composición de las soluciones utilizadas en el experimento. Concentración milimolar (mM) de las soluciones de Ringer Krebs Normal, de la solución de Ringer Krebs de Potasio alto (60 mM) y de las soluciones despolarizantes con diferentes concentraciones de Potasio (mM).

GRUPO CONTROL Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

Grupo	Número de anillos uterinos	Prueba de Viabilidad (mM)	Preincubación por 20 min. Con xantorizol (µg/ml)	Soluciones despolarizantes de KCl (mM)
1. CONTROL	12	KCl 60	0	5,10,20,30,40,50,60,70
2. Xantorizol 3µg/ml	12	KCl 60	3	5,10,20,30,40,50,60,70
3. Xantorizol 10µg/ml	12	KCl 60	10	5,10,20,30,40,50,60,70
4. Xantorizol 30µg/ml	12	KCl 60	30	5,10,20,30,40,50,60,70
5. Xantorizol 100µg/ml	12	KCl 60	100	5,10,20,30,40,50,60,70

Cuadro 5. Se hicieron 5 grupos, cada uno con 12 anillos uterinos; a los cuales se les realizó la prueba de viabilidad con KCl 60 mM. El grupo 1 fue control, en ausencia de xantorizol, los 4 grupos restantes fueron preincubados por 20 minutos a distintas concentraciones de xantorizol respectivamente. Posteriormente, se añadieron las concentraciones crecientes de KCl.

EFFECTO INHIBITORIO DEL XANTORRIZOL SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL INDUCIDA POR KCl EN ANILLOS DE ÚTERO DE RATA ESTROGENIZADA.

Xantorizol (µg / ml)	CE ₅₀ (µg/ml)	R _{max} (%)
Control	32.72 ± 1.05	101.57 ± 3.61
3	31.75 ± 1.03	71.44 ± 2.9 *
10	35.23 ± 1.45	52.09 ± 1.88*
30	40.85 ± 1.80*	33.71 ± 2.69 *
100	37.94 ± 1.76	14.50 ± 2.17*

Cuadro 6. Promedio de las concentraciones efectivas cincuenta (CE₅₀) y de la Respuesta Máxima (R_{max}) en los grupos experimentales. Los valores representan el promedio (X) y ± el error estándar de la media (E.E.) con una n =12. * p<0.05, comparado con el control.

EFFECTO INHIBITORIO DEL XANTORRIZOL SOBRE LA RESPUESTA CONTRÁCTIL INDUCIDA POR KCl EN ANILLOS DE ÚTERO DE RATA ESTROGENIZADA.

AGENTE ÚTERO RELAJANTE (AUR)	AGENTE CONTRÁCTIL	CONCENTRACIÓN DEL AUR	Cl ₅₀	REFERENCIA
<i>Crataegus crassipes</i> (acto acuoso)	Oxitocina 9.9 x 10 ⁻¹¹ M	50 µg/ml - 3.2 mg/ml		Amos S, Okwvasaba KF, Gamaniel K. 1998
<i>Crataegus mitis</i> (acto acuoso)	Oxitocina 2x10 ⁻⁹ UI	1mg/ml - 8 mg/ml		Vongtau HO; Amos S; Bunda L. 2000
<i>Crataegus palaestinum</i> (na)	Contractilidad espontánea	1nM-0.6µM	0.205±0.99 µM	Afifi FV, Khali E, Abdalla 1998
<i>Crataegus alone</i> (roide)	KCl 60 mM		10 ±1.89µM	Revueltas MP; Cantabrana B, Hidalgo A. 2000
éster 15 α-hidroxi-dihidro-ol de <i>Montanoa tomentosa</i>)	Contractilidad espontánea	15-100µM	49.3µM	Campos G; Ponce H, Valencia A, Gallegos A; Ros T. 1990
olín de <i>Coleous Forskolt</i>)	CaCl 0.01 -22mM	0.3-10µM		Calixto JB. 1989
na	KCl 56 mM Ach 10 ⁻⁴ M		KCl: 4.00±0.97µM Ach: 24.9±10.1µM	Ivorra MD y col. 1993
a	KCl 56 mM Ach 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁷ -3x10 ⁻⁶ M	KCl: 32.5±9.4µM Ach: 14.5±3.3µM	Ivorra MD y col. 1993
orfina	KCl 56 mM Ach 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁷ -3x10 ⁻⁶ M	KCl: 14.01±2.7µM Ach: -----	Ivorra MD. y col. 1993
rina	PG-G ¹ 10 ⁻¹⁰ -10 ⁻⁶ M	9.3x10 ⁻⁶ M		Singh M y Sharma PL. 1989
filina	PG-G ¹ 10 ⁻¹⁰ -10 ⁻⁶ M	5.7x10 ⁻⁶ M		Singh M. y Sharma PL. 1989
rina	KCl 56.3 mM Ach 10 ⁻⁴ M		KCl: 0.032±0.5µM Ach: 0.028±0.5µM	D'Ocon y col. 1992
ndrina	KCl 56.3 mM Ach 10 ⁻⁴ M		KCl: 2.72±0.3 Ach: 3.9±0.9	D'Ocon y col. 1992.
rina	KCl 56.3 mM		2.7±0.4µM	Anselmi y col. 1992.
inol	KCl 56.3 mM		6.3±2.8µM	Anselmi y col. 1992
auradiénoico	Contractilidad espontánea	0.1-6µg/ml	1.4µg/ml	Bejar E y col. 1984.
ni	Contractilidad espontánea	0.25-2.5µg/ml	0.45µg/ml	Bejar E y col. 1984
oa tomentosa (o acuoso)	Contractilidad espontánea	2-40µl/ml	14µl/ml	Bejar E. y col. 1984
etil del ácido moico	Contractilidad espontánea	12µg/ml		Enriquez y col. 1984
5α-OH-ent-19-cauranoico	Oxitocina 100 µUI/ml KCl 40mM	15-60µM		Ponce y col.1988

Cuadro 7. Sustancias con acción útero relajante obtenidas de plantas medicinales. Se ha propuesto que actúan bloqueando la entrada de Ca²⁺ operada por voltaje.

CURVA CONCENTRACIÓN RESPUESTA A KCl

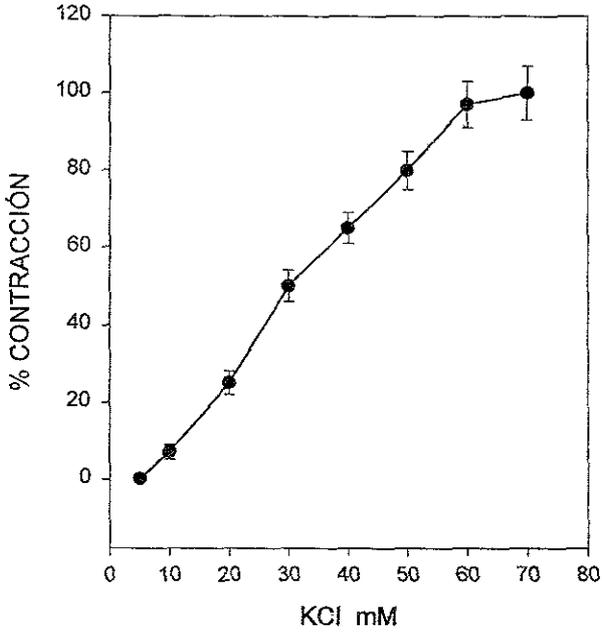


Gráfico 1. Grupo 1 control. Curva concentración respuesta a KCl (5,10,20,30,40,50,60,70 mM)

CURVA CONCENTRACIÓN RESPUESTA A KCl
Y EN PRESENCIA DE 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DE XANTORRIZOL

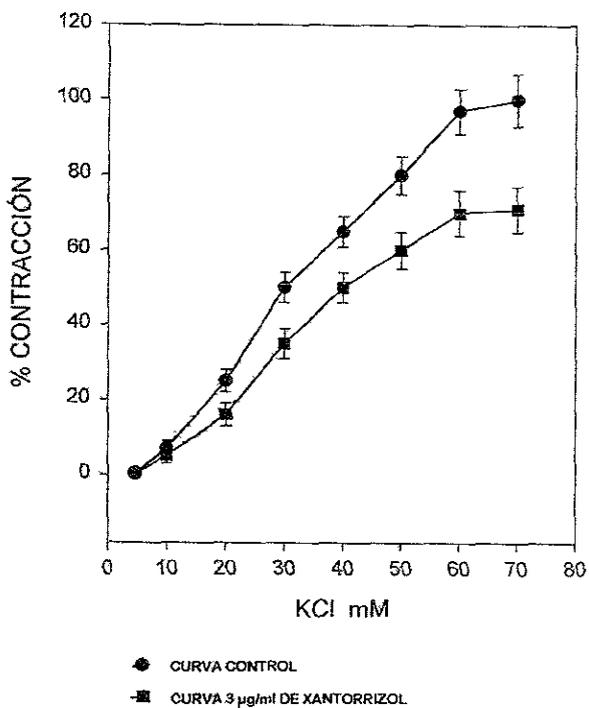


Gráfico 2. Grupo 2 KCl 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de xantorrizol. Posterior a la incubación con 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de xantorrizol, la curva se desplazó hacia la derecha al agregarle concentraciones crecientes de KCl, en comparación con la curva concentración respuesta de KCl sin xantorrizol.

CURVA CONCENTRACIÓN RESPUESTA A KCl
Y EN PRESENCIA DE 10 $\mu\text{g/ml}$. DE XANTORRIZOL

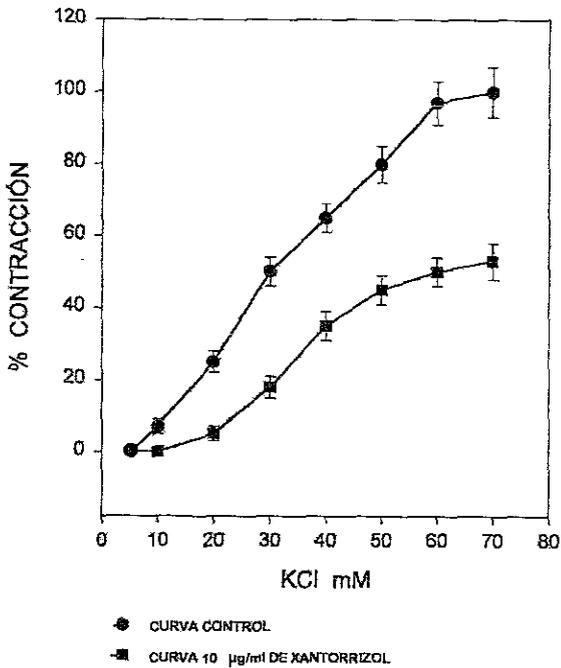


GRÁFICO 3. Grupo 3. KCl 10 $\mu\text{g/ml}$ de xantorrizol. Posterior a la incubación con 10 $\mu\text{g/ml}$ de xantorrizol, la curva se desplazo hacia la derecha al agregarle concentraciones crecientes de KCl, en comparación con la curva concentración respuesta de KCl sin xantorrizol.

CURVA CONCENTRACIÓN RESPUESTA A KCl
Y EN PRESENCIA DE 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DE XANTORRIZOL

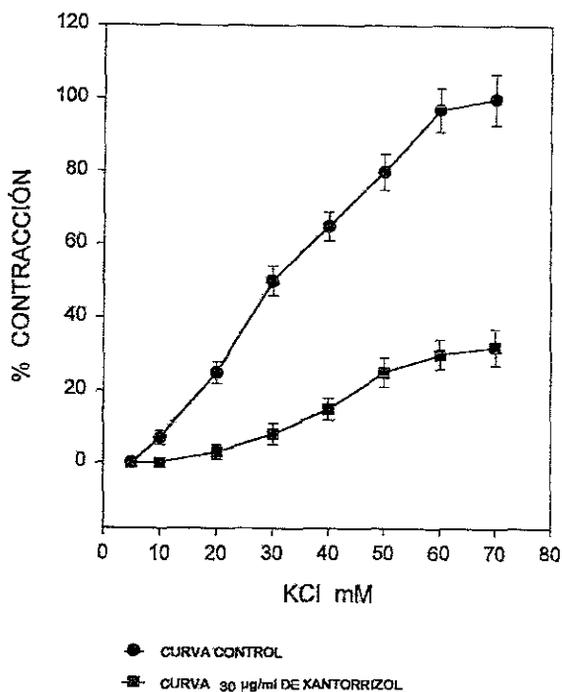


GRÁFICO 4. Grupo 4 KCl 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de xantorrizol. Posterior a la incubación con 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de xantorrizol, la curva se desplazó hacia la derecha al agregarle concentraciones crecientes de KCl, en comparación con la curva concentración respuesta de KCl sin xantorrizol.

CURVA CONCENTRACIÓN RESPUESTA A KCl
Y EN PRESENCIA DE 100 µg/mL DE XANTORRIZOL

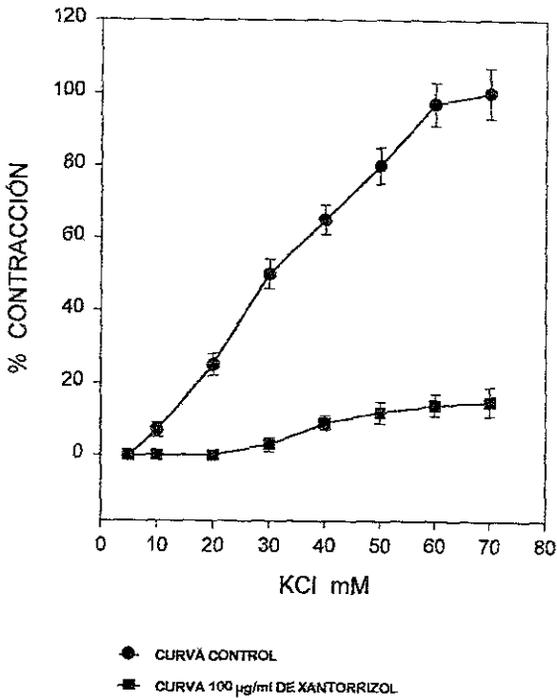


GRÁFICO 5. Grupo 5 KCl 100 µg/ml de xantorrizol. Posterior a la incubación con 100 µg/ml de xantorrizol, la curva se desplazó hacia la derecha al agregarle concentraciones crecientes de KCl, en comparación con la curva concentración respuesta de KCl sin xantorrizol.