



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“Efecto *in vitro* de los extractos de
tres plantas utilizadas en la medicina
tradicional mexicana contra
Entamoeba histolytica.”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

JOVANNY FERNANDO YONATAN
OLVERA BAUTISTA

Tutora: DRA. HELIA REYNA OSUNA FERNÁNDEZ.

2008



FACULTAD DE CIENCIAS
1929



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.



FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Efecto in vitro de los extractos de tres plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana contra Entamoeba histolytica

realizado por **Olvera Bautista Jovanny Fernando Yonatan** con número de cuenta **3-0011161-1** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dr. Guillermo Laguna Hernández
Propietario Dra. Elvia Manuela Gallegos Neyra
Propietario Tutor Dra. Helia Reyna Osuna Fernández
Suplente M. en C. Espiridión Ramos Martínez
Suplente M. en C. Armando Gómez Campos

Atentamente,

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU "

Ciudad Universitaria, D. F., a 26 de junio de 2008

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

DR. ZENÓN CANO SANTANA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

Hoja de datos del jurado

1. Datos del alumno.

Olvera
Bautista
Jovanny Fernando Yonatan
55 55 59 24
Universidad Nacional Autónoma
de México
Facultad de Ciencias
Biólogo
300111611

2. Datos del tutor.

Dra.
Helia Reyna
Osuna
Fernández

3. Datos del sinodal 1.

Dra.
Elvia Manuela
Gallegos
Neyra

4. Datos del sinodal 2.

M. en C.
Armando
Gómez
Campos

5. Datos del sinodal 3.

Dr.
Guillermo
Laguna
Hernández

6. Datos del sinodal 4.

M. en C.
Espiridión
Ramos
Martínez

7. Datos del trabajo escrito.

Efecto *in vitro* de los extractos de
tres plantas utilizadas en la
medicina tradicional mexicana
contra *Entamoeba histolytica*.
125 p.
2008

El desarrollo de la investigación realizada en la presente disertación fue llevada a cabo en la Facultad de Ciencias, UNAM bajo la dirección de la Dra. Helia Reyna Osuna Fernández del Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas, Edificio B de Biología, 3er piso.

También se menciona que el trabajo que a continuación se presenta requirió del uso de equipo y materiales tanto químicos como biológicos de otras instituciones tales como el Instituto de Química, UNAM bajo la asesoría del Dr. Ricardo Reyes Chilpa y con la autorización del Dr. Manuel Jiménez del área Química Orgánica, y del Laboratorio de Patología Experimental de la Facultad de Medicina, UNAM, bajo la asesoría de M. en C. Espiridión Ramos Martínez y el Biol. Mario Néquiz Avendaño, con la autorización del Dr. Alfonso Olivos.

Agradecimientos institucionales

A nuestra máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser el lugar donde me desarrolle humanamente en los campos científico, deportivo, recreativo y cultural.

A mi queridísima Facultad de Ciencias, que fue una segunda casa en los últimos cinco años, el lugar donde me forme como biólogo y profesionista, el sitio donde pase muchas alegrías y algunos sinsabores y finalmente el lugar que me dio los conocimientos para ser una persona competente, responsable y dedicada al ejercicio de su profesión.

Al Laboratorio de Patología Experimental de la Facultad de Medicina y al Instituto de Química de la UNAM por permitirme desarrollar parte de mi proyecto de tesis.

Agradecimientos técnicos

Al Biól. Mario Néquiz Avendaño y al Dr. Ricardo Reyes Chílpa por brindarme el apoyo técnico para desarrollar mi trabajo experimental.

*Al Dr. Alfonso Olivos del Laboratorio de Patología Experimental, y al Dr. Manuel Jiménez Estrada del Instituto de Química por brindarme las facilidades para desarrollar parte de mi trabajo.
A mis sinodales por las revisiones que realizaron al escrito.*

Dedicatorias

A mis padres, Fernando Olvera Nájera y Rosalía Bautista García, por su amor, sus consejos, por estar ahí conmigo apoyándome y brindándome ese aliento a no desistir en mis planes y esfuerzos por superarme y crecer como persona.

A mis hermanos Luis César y Dante Axel, por los momentos de felicidad y enojo pero sobre todo por el apoyo desde siempre.

A mi tía, todos mis primos y tíos con quienes he compartido toda mi vida.

A Martha por formar parte de mi vida, por todo su amor, comprensión, apoyo, consejos y por estar ahí en los momentos más críticos que se presentaron al desarrollar y culminar este trabajo.

A Paty, por su valiosa amistad desde hace varios años, por todo el apoyo brindado y las miles de ocasiones en que estuvo ahí para escucharme.

A mis amigos de la Facultad de Ciencias, Aldebarán, Carlos, Jorge, Karla, Luisa, Magaly, Nalleli, Nancy, Pilar, Quetzalli, Raquel y Rubén, con quienes conviví y pase muchos momentos importantes que disfrute en todo este tiempo.

A mis amigos del museo Universum de la sala de química, Adriana, Anayantzin, Circe, Claudia, Eimy, Guillermo, Hilda, Jimena, Laura, Margarita, Sachenka, Vanessa y Valentín, que han compartido parte de mi vida.

A la Dra. Ma. Antonieta Aladro Lubel y a la Biol. Margarita Reyes Santos del Laboratorio de Protozoología de la Facultad de Ciencias, UNAM por brindarme innumerables oportunidades para desarrollarme profesionalmente y darme ese espacio para colaborar y apoyar en las actividades de investigación en las que pude participar durante los últimos dos años, así como por todo el afecto otorgado.

A las personas que formaron parte de mi vida personal y con quienes viví y disfrute varios momentos de alegría durante algún tiempo.

A los compañeros que conocí en diversas etapas de mi vida, ya fuera en el ámbito escolar, el social o el casual y con quienes compartí algún momento, alguna clase, celebración o tristeza.

A los profesores de las diversas asignaturas que me brindaron parte de su conocimiento en la formación de biólogo, sobre todo a aquellos que dieron más.

A las personas que incidentalmente han influido en mi vida para bien y que han participado de alguna forma en que llegará hasta aquí.

Algunas Citas:

Un científico en su laboratorio no es solamente un técnico; es también un niño situado frente a un fenómeno natural que lo impresiona, como si fuera un cuento de hadas.

Marie Curie

La ignorancia afirma o niega rotundamente, la ciencia duda.

Voltaire

Entender de algo que se ha sabido toda la vida...esto es aprender.

Doris Lessing

Sabio no es el que da las respuestas correctas sino el que hace las preguntas correctas.

Claudé Levi-Strauss

La verdadera ignorancia no es la ausencia de conocimientos, sino el hecho de rehusarse a adquirirlos.

Karl Popper

La ciencia siempre necesita mucha imaginación, no todo es razonamiento lógico, la belleza y la poesía también son indispensables.

María Montessori

Los conocimientos nos conducen a lugares sin frontera.

Roger Patrón Luján

“... y cuando te hayas consolado (todos nos consolamos), te sentirás contento por haberme conocido. Tú serás siempre mi amigo. Tendrás la voluntad de reír conmigo. Y algunas veces abrirás esa ventana no más porque sí, por gusto... Y tus amigos se asombrarán de oírte reír mientras miras hacia el cielo. Entonces les explicarás: “¡Sí, las estrellas, ellas siempre me hacen reír!” Te juzgarán de loco pero te lo encargo...”

*Antoine de Saint-Exupéry
(El principito)*

*Debo ser fuerte sin ser rudo,
ser amable sin ser débil,
aprender con orgullo sin ser arrogante,
aprender a ser gentil sin ser suave.*

*Ser humilde sin ser tímido,
ser valeroso sin ser agresivo,
ser agradecido sin ser servil,
ser reflexivo sin ser flojo.*

Anónimo

Contenido

Votos aprobatorios.....	I
Hoja de datos del jurado.....	II
Agradecimientos institucionales y técnicos.....	IV
Dedicatorias y algunas citas.....	V
Contenido.....	1
Lista de cuadros y figuras.....	4
Resumen.....	6
I. Antecedentes.....	7
1.1 Entamoebosis.....	8
1.2 Situación de la entamoebosis en México.....	9
1.3 Factores que incrementan el riesgo de infección.....	9
1.4 Prevención social.....	10
II. <i>Entamoeba histolytica</i>.....	11
2.1 Aspectos históricos.....	12
2.2 Descripción del organismo.....	14
2.3 Ciclo biológico.....	16
2.4 Otras amebas simbióticas.....	19
2.4.1 <i>Entamoeba dispar</i>	19
2.4.2 <i>Entamoeba hartmanni</i>	20
2.4.3 <i>Entamoeba coli</i> Grassi.....	20
2.4.4 <i>Entamoeba polecki</i>	20
2.4.5 <i>Entamoeba gingivalis</i>	20
2.4.6 <i>Iodamoeba bütschlii</i>	21
2.4.7 <i>Endolimax nana</i>	21
2.4.8 <i>Dientamoeba fragilis</i>	22

III.	Enfermedad y tratamiento.....	26
3.1	Cuadro clínico.....	27
3.2	Tratamiento.....	30
IV.	La búsqueda de nuevos tratamientos.....	34
4.1	Estudio de plantas medicinales.....	36
4.2	Otras alternativas de tratamiento.....	41
4.2.1	Vacuna.....	41
4.2.2	Probióticos.....	42
4.2.3	Fitomedicamentos.....	43
V.	Plantas medicinales de estudio.....	45
5.1	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	46
5.1.1	Descripción botánica.....	47
5.1.2	Usos medicinales de la planta.....	48
5.2	<i>Castela erecta texana</i>	49
5.2.1	Descripción botánica.....	51
5.2.2	Usos medicinales de la planta.....	51
5.3	<i>Lepidium virginicum</i>	53
5.3.1	Descripción botánica.....	54
5.3.2	Usos medicinales de la planta.....	55
VI.	Justificación y objetivos.....	56
6.1	Justificación.....	57
6.2	Objetivo General.....	57
6.3	Objetivos Particulares.....	57
VII.	Material y Métodos.....	58
7.1	Sitio de colecta.....	59
7.2	Preparación de los extractos.....	60

7.2.1	Extracto acuoso.....	60
7.2.2	Extractos orgánicos.....	60
7.3	Cepas de <i>E. histolytica</i>	61
7.4	Ensayos biológicos.....	63
7.5	Modelo estadístico.....	65
7.6	Análisis e interpretación de la información.....	66
VIII.	Resultados y discusión.....	67
8.1	Resultados.....	68
8.1.1	Rendimiento de los extractos.....	68
8.1.2	Evaluación de los extractos.....	68
8.1.2.1	Extracto acuoso.....	69
8.1.2.2	Extracto metanólico.....	69
8.1.2.3	Extracto de diclorometano.....	69
8.1.2.4	Extracto hexánico.....	72
8.2	Discusión.....	72
IX.	Conclusiones y perspectivas.....	82
9.1	Conclusiones.....	83
9.2	Perspectivas.....	83
X.	Literatura Consultada.....	84
Anexos.....		93
A.	Glosario.....	94
B.	Clasificación de Corliss (1994).....	107
C.	Nomenclatura de las protozoosis.....	114
D.	Medio de cultivo.....	116
E.	Solución de fosfatos salina.....	118
F.	Pruebas estadísticas.....	120

Lista de cuadros y figuras

Cuadros

1. Lista comparativa entre las diferentes marcas y presentaciones de metronidazol.....	38
2. Fitomedicamentos contra desordenes gastrointestinales más comercializados en la Unión Europea.....	44
3. Rendimiento obtenido de las diferentes extracciones para cada planta.....	68
Anexo E Pruebas Estadísticas.....	120

Figuras

1. Trofozoítos en medio TYI-S-33.....	15
2. Quistes de <i>Entamoeba histolytica</i> en técnicas de tinción.....	15
3. Ciclo de vida de <i>Entamoeba histolytica</i>	17
4. Esquema donde se muestra el proceso de exquistamiento de <i>Entamoeba histolytica</i>	18
5. Amebas simbióticas del género <i>Entamoeba</i> presentes en el humano.....	24
6. Otros organismos simbióticos tipo ameba presentes en el humano.....	25
7. Esquema que muestra los sitios donde <i>Entamoeba histolytica</i> causa lesiones más frecuentes en el colon.....	29
8. Estructura de la molécula de metronidazol.....	31
9. <i>Chenopodium ambrosioides</i> (epazote).....	46
10. Estructura de la molécula del ascaridol.....	49
11. <i>Castela erecta texana</i> (chaparro amargoso).....	50
12. Estructura de los cuasinoides aislados de <i>C. erecta texana</i>	52
13. <i>Lepidium virginicum</i> (lentejilla de tierra).....	54
14. Estructura molecular de la glucotropeolina.....	55

15. Sitio de colecta.....	59
16. Equipo Soxhlet utilizado para las extracciones orgánicas.....	62
17. Rotavapor y bomba de vacío.....	62
18. Diagrama de flujo que muestra la metodología seguida en esta disertación.....	64
19. Efecto de los extractos acuosos (H ₂ O) de las tres plantas contra <i>Entamoeba histolytica</i>	70
20. Efecto de los extractos metanólicos (MeOH) de las tres plantas contra <i>Entamoeba histolytica</i>	70
21. Efecto de los extractos acuosos (CH ₂ Cl ₂) de las tres plantas contra <i>Entamoeba histolytica</i>	71
22. Efecto de los extractos acuosos (C ₆ H ₁₄) de las tres plantas contra <i>Entamoeba histolytica</i>	71

Resumen

La entamoebosis o amibiasis representa la primera causa de muerte por parásitos en México mientras que en el mundo es la tercera. El agente etiológico de la enfermedad es *Entamoeba histolytica*, un protozoo que se establece en el colon causando disentería amebiana y que llega a afectar otros órganos como el hígado donde se manifiesta formando absceso amibiano. Las condiciones de extrema pobreza representan el principal factor para la adquisición del parásito.

El tratamiento más común de esta enfermedad es con metronidazol; sin embargo, sus efectos secundarios son muy agresivos, además que en estudios recientes se ha encontrado que este fármaco es genotóxico en bacterias y cancerígeno en roedores; sin embargo, a pesar que estos efectos aún no se han demostrado en humanos se tiene reportado que algunas cepas del protozoo ya son resistentes al fármaco, por lo que la búsqueda de tratamientos alternativos se ha dirigido nuevamente en las plantas utilizada en la medicina tradicional.

En el presente trabajo se estudió el efecto *in vitro* de los extractos obtenidos con agua, metanol, diclorometano y hexano, de tres plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana para combatir esta enfermedad; el epazote (*Chenopodium ambrosioides*), el chaparro amargoso (*Castela erecta texana*) y la lentejilla de tierra (*Lepidium virginicum*). Los resultados mostraron actividad biológica contra *E. histolytica*, siendo *C. ambrosioides* la especie con mayor eficacia en todos sus extractos. Así mismo se obtuvo un efecto sobresaliente de otros extractos de diferente polaridad (hexano y diclorometano) para las tres plantas estudiadas, que resultaron en nuevo conocimiento ya que no existen reportes previos de su actividad.

Los resultados obtenidos validan el uso medicinal de estas plantas en la medicina tradicional.

CAPÍTULO

1

Antecedentes.

I. Antecedentes

1.1 Entamoebosis.¹

La entamoebosis conocida también con los nombres de amibiasis y disentería amibiana es una enfermedad cuyo impacto a nivel mundial es alarmante pues representa la tercera causa de muerte mundial por parásitos. Se estima que causa alrededor de 100 mil muertes anuales y existen infectadas al menos 50 millones de personas, siendo esta última una cifra que equivale del 10 al 20 % de la población (Gallardo, 2006; Guzmán, 2006).

En México se estima que el 25 % de la población padece esta enfermedad y al menos el 8 % de la población de todo el país ha padecido un episodio de entamoebosis en su vida siendo la primera causa de muerte por parásitos (Ceceña, 2000; Gallardo, 2006; Guzmán, 2006; Snow y Stanley, 2006).

El agente etiológico es el protozoo *Entamoeba histolytica* el cual pertenece al Phylum Rhizopoda donde se encuentran los organismos que clásicamente conocemos con el nombre de amebas o amibas (Corliss, 1994; Aladro-Lubel, 2006).

Entamoeba histolytica se considera un endoparásito, lo que significa que requiere ingresar al interior del cuerpo para poder establecer la relación patógena con el humano, lo cual se logra cuando la ameba² se adhiere a las paredes del colon (Lom, 2002). La forma en que este parásito ingresa al organismo es a través de la etapa llamada quiste, la cual sale en las heces del portador y puede infectar otro individuo a través de la vía oral, pues el quiste puede ser ingerido en el agua y los alimentos contaminados, lo cual pone en riesgo la salud de cualquier persona sin excepción; sin embargo, el riesgo de infección se incrementa cuando existe falta de servicios como agua potable, alcantarillado y sanitarios; esto último es muy importante porque su ausencia tiene como consecuencia el

¹ Nomenclatura actualmente aceptada por Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (Fuente: Tay *et al.*, 2002). En el Anexo C se muestra la nomenclatura actual y anterior de las protozoosis humanas.

² Este término también es aceptado en la lengua española y es sinónimo de amiba. Por tanto las voces que deriven de esta palabra son válidas.

defecamiento de la gente al aire libre, lo que conlleva a la prevalencia de la enfermedad en estas comunidades. Este es un factor importante porque a pesar que la enfermedad tiene carácter cosmopolita la mayor incidencia ocurre en los países tropicales, donde la situación económica de muchos poblados es de extrema pobreza (Barbosa, 2000).

1.2 Situación de la entamoebosis en México.

Un estudio realizado por Gallardo (2006) nos muestra que la enfermedad prevalece con porcentajes del 30 al 55 % de la población en países en vías de desarrollo, alcanzando un 75% en las comunidades más pobres con altos índices de incidencia. Este panorama indica que en el país la situación debe ser preocupante ya que existen 96 mil comunidades donde habitan menos de 400 personas las cuales viven con falta de servicios como son agua potable, drenaje y saneamiento ambiental. Esto se ve reflejado en las cifras de muertes reportadas en hospitales de la ciudad de México donde acuden personas de diversas regiones del país. Tan sólo en el Hospital General de la Ciudad de México y el Hospital del Pediatría del IMSS los casos mortales de entamoebosis ocupan la cuarta y quinta causa de muerte que se registran anualmente en cada uno.

1.3 Factores que incrementan el riesgo de infección

Partiendo que la enfermedad se contrae por ingestión del quiste de *E. histolytica* existen factores que contribuyen a la prevalencia de la enfermedad y el riesgo de adquirirla, los cuales se mencionan a continuación:

- a) **Las condiciones ambientales.** Se incluye las épocas de lluvia que sumada a la falta de servicios de drenaje trae consigo inundaciones donde se producen los focos de infección (Botero y Restrepo, 1999; Ceceña, 2000; Gallardo 2006).
- b) **Deficiencias de higiene y educación.** La ignorancia sobre la enfermedad y como se transmite incrementa impide que la gente tome medidas preventivas. Así mismo la falta de higiene al preparar los alimentos incrementa el riesgo de infección (Botero y Restrepo 1999; Ceceña, 2000; Tay *et al.* 2002).

- c) **Costumbres alimenticias.** Las costumbre de la población en ingerir alimentos en puestos ambulantes y sitios donde la higiene es cuestionable son otro factor de riesgo. (Botero y Restrepo, 1999; Solís, 2001)
- d) **Las migraciones humanas.** Este factor se ha vuelto importante en los países en vías de desarrollo ya que muchas personas emigran de sus lugares de origen a las ciudades en su país o en el extranjero en busca de mejores condiciones de vida por lo que los portadores del parásito pueden diseminarlo incidentalmente en esos lugares (Botero y Restrepo, 1999; Lievano, 1999; Gallardo, 2006).
- e) **Zoonosis.** Aunque en el caso de *E. histolytica* aún no esta bien documentado existen reportes que algunos insectos son portadores quistes de *E. histolytica* como las moscas y cucarachas. (Beaver *et al.*, 1986; Cárdenas, 2004)
- f) **Estado de salud.** Es un facto importante porque los parásitos logran establecerse si pueden superar la respuesta inmune del hospedero. Esto indica que si las personas padecen de estados de desnutrición y inmunosupresión los parásitos pueden tener las condiciones necesarias para poder ocasionar una invasión y proliferación en el organismo (Gallardo, 2006).

1.4 Prevención social

Sin duda hace falta mucho por establecer programas de prevención, de mejoramiento de las condiciones de vida de muchas personas y sobre todo de un tratamiento eficaz contra la enfermedad como una vacuna que dote de inmunidad contra *E. histolytica*, aunque el proyecto ya esta en vías de desarrollo desde hace años (Guzmán, 2006; Snow y Stanley, 2006).

Para tal propósito se sugiere la elaboración de una vacuna oral que dote de anticuerpos que impidan que la ameba se adhiera al epitelio intestinal porque de esa manera se podría eliminar a través de las heces (Snow y Stanley, 2006). De hecho uno de los equipos con más avances al respecto es el que dirige el Dr. Juan Pedro Laclette del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM; sin embargo, se debe aclarar que aún no se tiene la vacuna (Guzmán, 2006).

CAPÍTULO

2

Entamoeba histolytica.

II. *Entamoeba histolytica*

La ubicación taxonómica de este organismo ha cambiado mucho a lo largo de la historia y los diferentes sistemas de clasificación. En este trabajo se utilizó la clasificación propuesta por Corliss (1994), quien en principio maneja una separación más definida de todos los grupos de protozoos a pesar que ésta no refleje de manera fiel las relaciones filogenéticas (Aladro-Lubel, 2006).

Dicha clasificación maneja entre otras cosas la elevación a reino (Protozoa) del grupo de organismos que son considerados como protozoos, con lo que se rompe con su ubicación dentro del reino clásico Protista, aunque cabe mencionar que dicha elevación del taxón ya había sido considerada por otros protozoólogos (Diamond y Clark, 2001; Aladro-Lubel, 2006).

De esta forma la especie *E. histolytica* queda ubicada dentro del Phylum Rhizopoda y la Clase Entamoebidea; que son taxones que no se manejan en otras clasificaciones (Corliss, 1994; Diamond y Clark, 2001; Aladro-Lubel, 2006). En cuanto a los niveles siguientes coinciden con los de la literatura clásica donde se ubica dentro del orden Entamoebida, la familia Entamoebidae y el género *Entamoeba* (Anexo B).

2.1 Aspectos históricos

El conocimiento de este organismo data del siglo XIX cuando fue observado por primera vez, pero su patogenicidad no quedó del todo clara hasta 1993 cuando se hicieron estudios moleculares y bioquímicos al respecto (Warhurst, 1999).

Este protozoo al cual se adjudica la amebiasis humana en todo el mundo fue descubierto por Lösch en 1875 quien lo observó por primera vez mientras examinaba una muestra de tejido de colon donde lo encontró devorando activamente a los eritrocitos; sin embargo, en sus observaciones no estableció la relación patógena del organismo con el enfermo (Warhurst, 1999; Diamond y Clark, 2001; Bogitsh *et al.*, 2005).

En 1891 los trabajos de Councilman y Lafleur demostraron que esta ameba tenía un papel parásito con lo que se dio inicio al estudio más profundo de este organismo a partir de los primeros años del siglo XX. Entre los primeros se encuentran los trabajos de Schaudinn y Walker que dieron una descripción más precisa del parásito; sin embargo, los estudios clínicos que se fueron realizando al cabo de esos años pusieron en duda su patogenicidad ya que se encontró que en muchos pacientes infectados no se presentaban los síntomas de la enfermedad por lo que se pensó en la existencia de otra especie como responsable del cuadro clínico (Kudo, 1966; Warhurst, 1999).

En 1925, los trabajos de Brumpt propusieron la existencia de dos especies que eran morfológicamente idénticas, siendo una de ellas no virulenta y responsable de esta confusión en el diagnóstico por lo que se acordó nombrar a esta especie como *E. dispar*, siendo esta idea aceptada por mucho tiempo y la cual tomó mucha validez por varias investigaciones que se realizaron en México durante la década de los setenta sobre aglutinamiento de lectina y eritrofagocitosis, así como otras similares que se llevaron a cabo en Reino Unido (Warhurst, 1999; Diamond y Clark, 2001).

Con el auge de la biología molecular, el conocimiento de de los aspectos bioquímicos y biológicos de *Entamoeba histolytica* se incrementaron de tal forma que se pensó en realizar una redescrición de la especie. De igual forma los datos del informe de la OMS/OPS sobre protozoos intestinales obligaron a llevar a cabo su redescrición y a realizar la diferenciación entre la forma patógena y la no patógena (Clark y Diamond, 1993; Warhurst, 1999).

En 1993 se publicó el artículo donde se reunieron las evidencias moleculares suficientes que probaban que la forma no patógena era otra especie, siendo entonces nuevamente descritas y reconocidas como *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (corregido por Walker, 1911) y *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925, las cuales fueron aceptadas internacionalmente en el encuentro organizado por la OMS/OPS/UNESCO el cual se celebró en la Ciudad de México en enero de 1997, donde además se acordaron

medidas para la diagnosis y tratamiento (Clark y Diamond, 1993; Warhurst, 1999; Diamond y Clark, 2001).

2.2 Descripción del organismo

***Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (corregido por Walker, 1911).** Es un organismo eucarionte unicelular que presenta dos formas biológicas, una de ellas denominada trofozoíto y el otro quiste. (Kudo, 1966; Sleight, 1989; Warhurst, 1999; Ceceña, 2000; Mehlhorn, 2001; Bogitsh *et al.*, 2005).

El trofozoíto (Fig. 1) es la forma activa y causante de la enfermedad, el cual consiste en una célula digitiforme que mide 20 a 40 μm de diámetro (Beaver *et al.*, 1986; Warhurst, 1999; Mehlhorn, 2001; Bogitsh *et al.*, 2005). Presenta un lobópodo eruptivo cuyo desplazamiento es unidireccional progresivo; las vacuolas se observan llenas de eritrocitos, tejido celular o leucocitos; el núcleo es poco visible *in vivo* pero cuando se le reconoce se observa como un anillo que al teñirse se presenta una membrana con gránulos periféricos más pequeños y al centro el cariosoma (Lee *et al.*, 1985; Warhurst, 1999; Diamond y Clark, 2001), que es cuerpo que contiene cromatina densamente compactada y ADN (reacción positiva de Fielgen) que puede llegarse a observar como una red confusa con algunos gránulos (Kudo, 1966; Lee *et al.*, 1985). Su reproducción es asexual por fisión binaria, la cual solo ocurre en esta forma biológica.

El trofozoíto generalmente habita en el lumen del colon, pero cuando la población crece destruye la pared del epitelio intestinal alcanzando la vena porta y con ello logra la invasión de otros órganos principalmente el hígado, aunque se le ha localizado también en pulmones, testículos y cerebro (Kudo, 1966; Sleight, 1989; Bogitsh *et al.*, 2005).

Por otro lado tenemos el quiste (Fig. 2) que es la otra forma biológica del organismo y que constituye una fase de resistencia por la cual se transmite hacia otros individuos e inclusive al mismo hospedero, por lo que clínicamente es la fase infectiva. Su forma es esférica de 10 a 20 μm , el cual presenta de uno a cuatro núcleos, algunos gránulos de glucógeno y unas estructuras en forma de bastón con los bordes redondeados

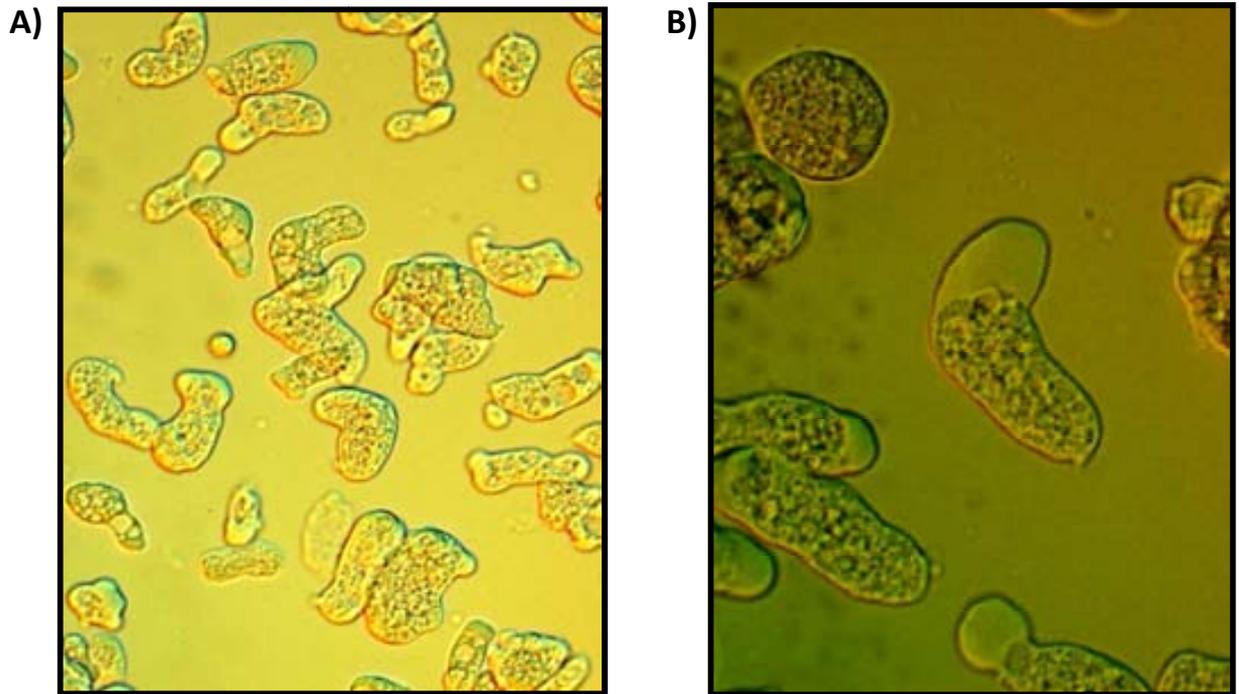


Figura 1. Trofozoítos en medio TYI-S-33. Campo claro: A) 20X y B) 40X. Laboratorio Protozoología, Facultad de Ciencias, UNAM

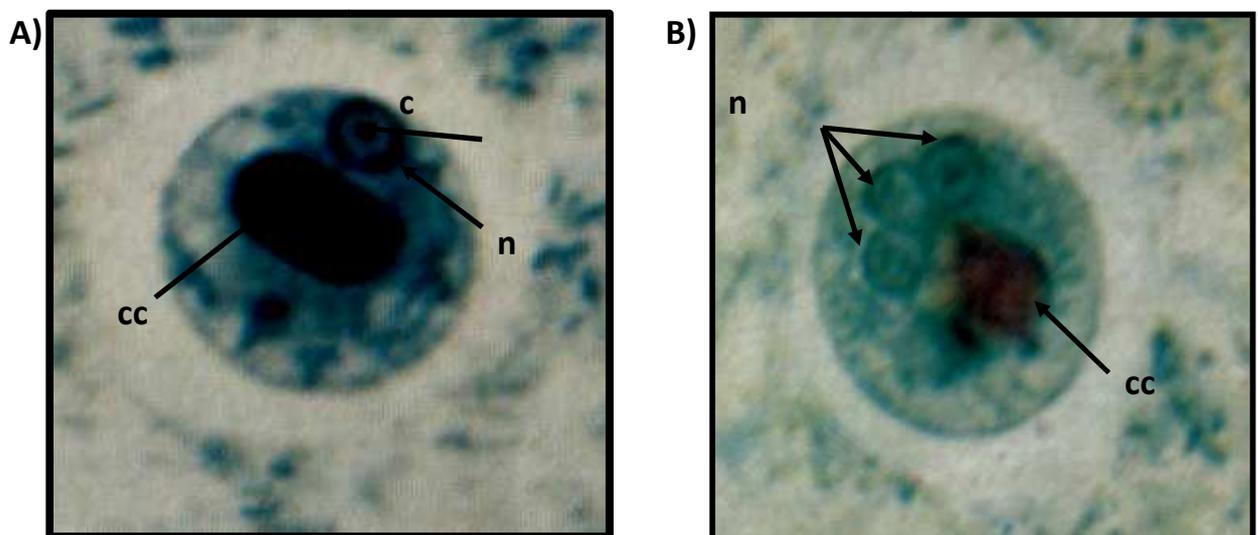


Figura 2. Quistes de *E. histolytica* en técnicas de tinción. A) Quiste inmaduro donde se muestran un núcleo (n) con el cariosoma (c) y los cuerpos cromatoides (cc). B) quiste maduro con cuatro núcleos y cuerpos cromatoides persistentes. Técnicas de tinción: A), hematoxilina férrica, 100X; B), tricrómica de Gomori, 100x. (Tomado de Spencer y Monroe, 1961).

de ARN las cuales se denominan cuerpos cromatoides, que persisten hasta que el quiste madura lo cual ocurre cuando el núcleo se divide un par de veces para formar cuatro núcleos pero cabe señalar que en ocasiones es posible ver los cuerpos cromatoides en los quistes tetranucleados porque en ellos no se ha terminado su absorción todavía (Kudo, 1966; Sleight, 1989; Warhurst, 1999; Bogitsh, 2005).

2.3 Ciclo biológico

El ciclo de vida de *E. histolytica* (Fig. 3) se describe en la forma que entra al hospedero y se desarrolla en él, aunque cabe mencionar que existen partes del ciclo que aún no se comprenden bien, pues a pesar de los numerosos estudios que se han realizado desde principios del siglo XX, existen interrogantes que no se han aclarado del todo, tales como el proceso de enquistamiento de los trofozoítos el cual hasta la fecha no ha podido llevarse a cabo en condiciones de laboratorio (Kudo, 1966; Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005).

Comenzando por la infección tenemos que los quistes de *E. histolytica* entran al organismo vía oral; esto es, cuando se consume algún alimento o agua contaminada con ellos como sucede con otras enfermedades gastrointestinales producidas por bacterias, protozoos, platelmintos y nemátodos (Ceceña, 2000).

Posteriormente los quistes pasan por el estómago sin ser destruidos y continúan siendo empujados con el alimento hasta llegar al intestino delgado, donde al parecer las condiciones neutras o ligeramente alcalinas del medio permiten que se lleve a cabo el exquistamiento, que da lugar a la aparición de una ameba con cuatro núcleos (metaquistica) que inmediatamente se divide hasta dar origen a ocho células uninucleadas que reciben el nombre de trofozoítos metaquisticos (Fig. 4). Éstos llegan hasta el intestino grueso donde se establecen en las paredes del epitelio intestinal, donde crecen y maduran (Beaver *et al.*, 1986; Warhurst, 1999 y Lom, 2002).

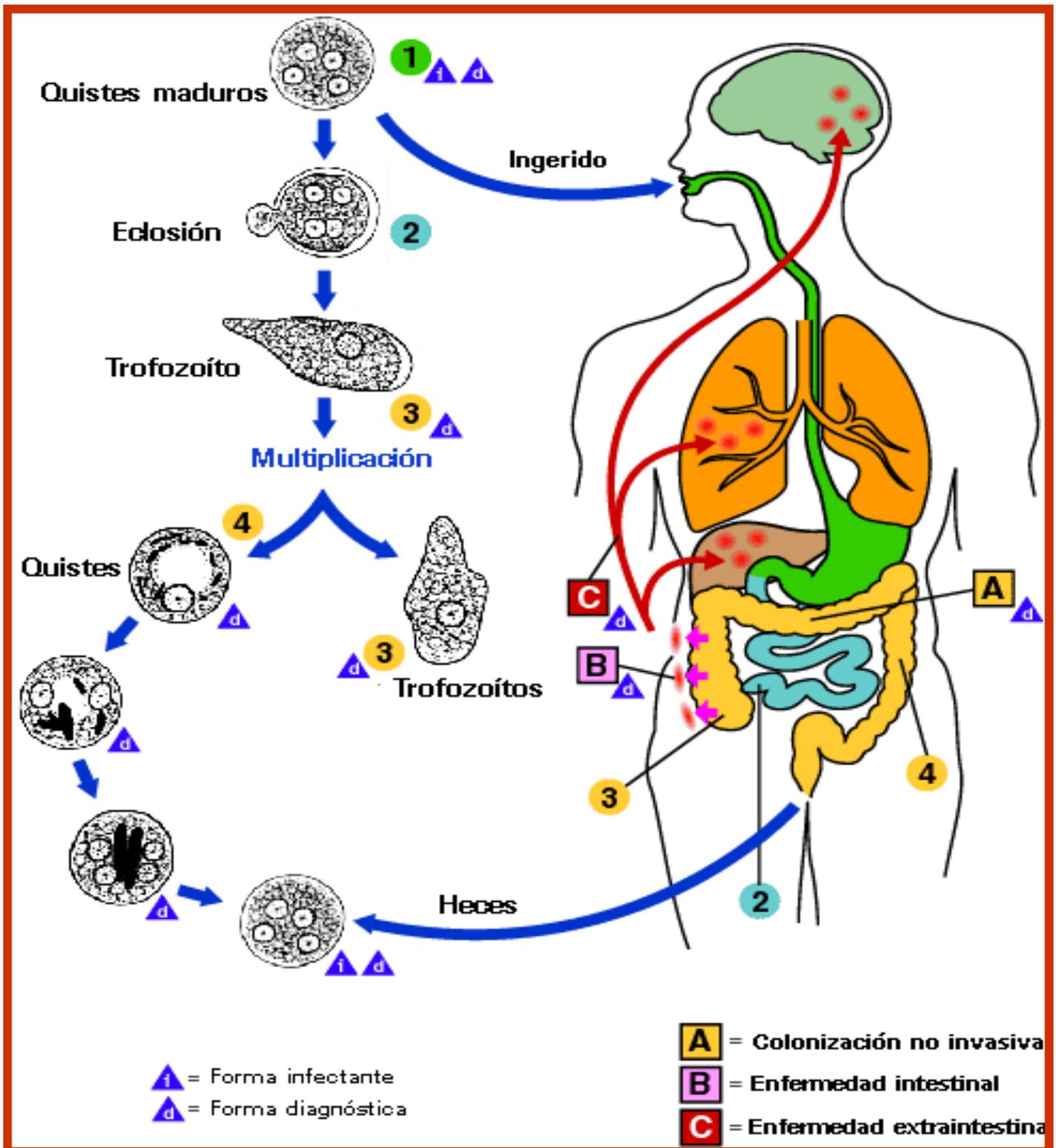


Figura 3. Ciclo de vida de *E. histolytica* donde se muestra como se desarrolla el protozoo en el humano desde que entra el quiste, coloniza el colon y se desarrollan las etapas de la amebiasis(A, B, C) y como sale del hospedero. (Tomado de: <http://www.cdc.com>).



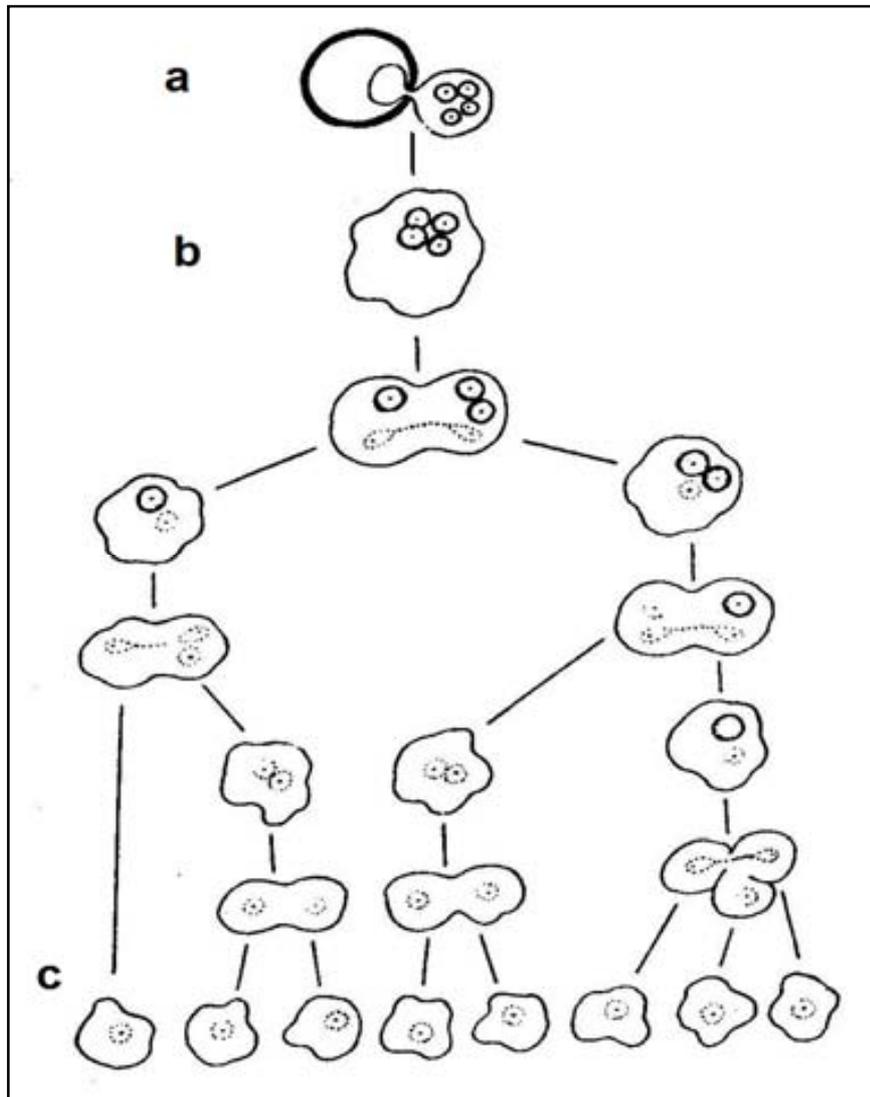


Figura 4. Esquema donde se muestra el proceso de exquistamiento de *E. histolytica* (a) en el hospedero. Nótese el proceso que ocurre para que el trofozoito metaquístico (b) origine ocho amebas pequeñas o amébulas (c). (Modificado de: Kudo, 1966).

Finalmente algunos trofozoítos del lumen intestinal comienzan el proceso de enquistamiento. Las razones por las que esto ocurre no se tienen muy claras pero se ha observado que algunos de ellos tras la división permanecen como trofozoítos pequeños que se mueven lentamente (trofozoítos prequísticos), los cuales van cambiando su forma digitiforme a esférica y el pseudópodo desaparece, pero si persiste es muy delgado y el movimiento deja de ser unidireccional progresivo, aunque desaparece después cuando se



secreta una membrana delgada y hialina que da lugar a la formación de la pared del quiste y con ello se inicia el proceso de enquistamiento. En las primeras etapas de formación el quiste es inmaduro, presenta un núcleo y cuerpos cromatoides; más tarde hay una división nuclear y se absorben los cuerpos cromatoides para terminar con el proceso de maduración. De esta forma el quiste maduro presenta cuatro núcleos únicamente. Los quistes salen en las heces hacia el medio exterior donde pueden ser transportados por el viento, insectos y cuerpos de agua hasta que sean ingeridos nuevamente por un nuevo hospedero (Kudo, 1966; Bogitsh, 2005).

2.4 Otras amebas simbióticas

Al principio de este capítulo se habló sobre la dificultad que ocurrió cuando se encontró una variedad no patógena de *E. histolytica* la cual hasta 1993 se definió como otra especie diferente que podría hallarse en el intestino del humano; sin embargo, hay que aclarar que existen otras especies, definidas como comensales, que vale la pena mencionar sólo porque algunas de ellas se pueden llegar a ser confundidas por error durante los exámenes coproparasitológicos (Ceceña, 2000).

La mayoría de las especies (Fig. 5) pertenecen al género *Entamoeba* por lo que muchas de ellas se han llegado a confundir porque presentan características comunes. Hasta hoy se reconocen cinco especies: *E. gingivalis*, *E. hartmanni*, *E. coli*, *E. polecki* y *E. dispar* (MacFarlane, 1960; Lambert, 1976; Beaver *et al.*, 1986; Ceceña, 2000; Bogitsh *et al.*, 2005).

Otras especies que se han descrito son *Iodamoeba bütschlii*, *Endolimax nana* y *Dientamoeba fragilis* (Fig. 6), todas consideradas también como comensales, aunque existen reportes de casos que resultaron ser patógenos (Sawitz, 1956; Lambert, 1976).

2.4.1 *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. Este organismo era considerado la forma no patógena de *E. histolytica* pero tras estudios moleculares fue separada y formalmente aceptada como nueva especie al ser nuevamente descrita por Diamond y Clark (1993) a

pesar de compartir las mismas características morfológicas. (Warhurst, 1999, Diamond y Clark, 2001; Bogitsh *et al.*, 2005)

2.4.2 *Entamoeba hartmanni* Von Prowazek, 1912. En la literatura la describen con una serie de sinonimias tales como *E. minuta*, *E. tenuis*, *E. minutissima* y *E. histolytica* “raza pequeña”. Presenta la misma morfología y ciclo de vida de *E. histolytica*. Las diferencias que se han observado son el tamaño del trofozoíto (4-12 μm) y del quiste (5-10 μm), la presencia de bacterias en vez de eritrocitos, un movimiento menos activo y los núcleos no se pueden observar sin tinción pero el cariosoma es grande. En los quistes se observa de uno a cuatro núcleos con cuerpos cromatoides de forma variable que suelen ser muy numerosos (Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005)

2.4.3 *Entamoeba coli* Grassi, 1879 (corregido por Casagrandi y Barbagallo, 1885). Los nombres con los que se les puede hallar son *Amoeba coli*, *Endamoeba hominis*, *Loschia coli* y *Councilmania lafleuri*. En cuanto a la morfología son trofozoítos de 15 a 40 μm y quistes de 10 a 30 μm . Se considera con poco movimiento y al igual que la especie anterior presenta bacterias y levaduras, aunque en ésta el núcleo es visible y suele presentar un cariosoma grande y excéntrico. El quiste presenta una pared refractaria a la luz y presenta de uno a ocho núcleos que se agrupan en el centro de forma irregular; aunque existen casos en los que se han llegado a encontrar que los quistes de mayor tamaño presentan hasta 16 núcleos (Beaver *et al.*, 1986), mientras que los cuerpos cromatoides se observan filamentosos, filiformes o en forma de astillas con extremos puntiagudos (MacFarlane, 1960; Lambert, 1976; Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005).

2.4.4 *Entamoeba polecki* Von Prowazek, 1912. Este organismo presenta morfología similar a la especie anterior pero el trofozoíto mide de 10 a 12 μm y los quistes de 5 a 11 μm . Ambos presentan un solo núcleo con cariosoma pequeño y central que se observa como un gránulo diminuto (Lambert, 1976; Beaver *et al.*, 1986).

2.4.5 *Entamoeba gingivalis* Gros, 1849 (corregido por Brumpt, 1913). Esta fue la primera ameba simbiótica del humano que se describió y se le halló en sarro dental.

También se le conoce como *Amoeba gingivalis*, *A. buccalis* y *Entamoeba buccalis*. En cuanto a su morfología solo se conoce el trofozoíto ya que el quiste nunca ha sido observado. Su tamaño es de 10 a 20 μm , presenta movimiento muy activo con varios lobópodos irregulares y puede contener tanto bacterias, leucocitos y algunas veces eritrocitos. El núcleo es esférico y mide de 2 a 4 μm con cariosoma regular con fibrillas acromáticas que se extienden hasta la membrana nuclear. Esta ameba vive en la boca y se alimenta de la descamación de las encías, pero también se le ha encontrado en la vagina, en mujeres con dispositivos intrauterinos. No se considera patógena pero se desarrolla mejor en personas con poca higiene oral, sobre todo en aquellas que presentan periodontitis y gingivitis por lo que podría estar relacionada con los padecimientos, pero esto no ha sido demostrado. Al no existir quiste se piensa que se podría transmitir directamente por alimentos y a través de los besos (MacFarlane, 1960; Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005).

2.4.6 *Iodamoeba bütschlii* Prowazek, 1911 (corregido por Dobell, 1911). Esta ameba (*Entamoeba williamsi*, *E. bütschlii*, “quistes de yodo”, *Endolimax williamsi* y *Iodamoeba williamsi*) pertenece al grupo de las “enanas” ya que su tamaño es de 6 a 25 μm , aunque su movimiento es activo con pseudópodos hialinos, las vacuolas contienen bacterias y levaduras; el núcleo siempre es visible, de forma alargada y con el cariosoma excéntrico que en ocasiones presenta un halo alargado e incoloro muy rico en cromatina y puede ocupar hasta la mitad del tamaño del núcleo. El quiste es redondo o angular, de 5 a 18 μm de diámetro, presenta de uno ó dos núcleos pero su característica más notable es tener una gran vacuola de glucógeno denso y compacto de forma ovoide o poligonal que se tiñe de color amarillo oscuro con yodo, mientras que se observa incolora con hematoxilina. Se le halla en el colon sobre todo en el ciego donde se alimenta de bacterias entéricas (MacFarlane, 1960; Lambert, 1976; Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005).

2.4.7 *Endolimax nana* Wenyon y O' Connor, 1917 (corregido por Brug, 1918). Este organismo (*Entamoeba nana* y *Endolimax intestinalis*) se considera la ameba intestinal más pequeña que se ha descrito para el humano y se puede llegar a confundir con *E.*

hartmanni por su similitud. Los trofozoítos miden de 6 a 15 μm , presenta granulaciones citoplasmáticas muy finas y un anillo muy estrecho de ectoplasma claro. El movimiento es muy lento a través de lobópodos cortos por lo que en ocasiones se le da el nombre de “seudobabosa” y solo en las heces diarreicas se le nota más activo y progresivo. Las vacuolas contienen bacterias, células vegetales y cristales. El núcleo solo es visible con tinción de hematoxilina férrica donde se muestra central, esférico y pequeño con cariosoma central o excéntrico muy evidente del cual se desprenden fibrillas acromáticas que lo unen a la membrana nuclear. El quiste es muy pequeño, de 5 a 14 μm) ovoide y presenta de uno a cuatro núcleos; en ocasiones presenta corpúsculos cromatoidales curvos o en forma de barras (Sawitz, 1956; MacFarlane, 1960; Lambert, 1976; Lamy, 1980; Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005).

2.4.8 *Dientamoeba fragilis* Jepps y Bobell, 1918. Este organismo había sido clasificado anteriormente dentro de los rizópodos (amebas) porque presenta la morfología típica del grupo (Sawitz, 1956; MacFarlane, 1960; Lambert, 1976; Lamy, 1980); sin embargo, con los estudios de biología molecular se demostró que en realidad comparte más características típicas de ciertos grupos de protozoos flagelados (Bogitsh *et al.*, 2005) por lo que en las clasificaciones más recientes se le ubica dentro de los parabasálidos, grupo al que pertenece el género *Trichomonas* (Corliss, 1994; Aladro-Lubel, 2004).

El trofozoíto mide de 6 a 12 μm de diámetro, presenta ectoplasma y endoplasma diferenciados, además el movimiento es activo a través de psedópodos hialinos de forma triangular con los bordes dentados (forma de hoja). Por lo general se observan dos núcleos pero en algunos casos se han reportado hasta cuatro. En cuanto a sus características encontramos que el núcleo presenta los cromosomas detenidos en telofase, así como la presencia de huso acromático extranuclear y otras estructuras típicas de los flagelados tricomonádidos (Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005). También es posible observar un cuerpo similar al cariosoma (presente en las amebas parásitas de la familia Entamoebida del Phylum Rhizopoda), pero a diferencia de éste, contiene ARN y no

esta asociado a ningún cromosoma, por lo que se le denomina con el nombre de endosoma (Lee *et al.*, 1985); además, presenta gránulos periféricos bien delimitados que forman una tétrada (Beaver *et al.*, 1986).

Actualmente no se han observado quistes y se desconoce la forma de transmisión; así mismo no se tiene bien definido si este organismo es patógeno ya que no se tiene la suficiente evidencia que lo demuestre. Se ha observado que puede provocar irritación en la mucosa intestinal pero la prueba más fuerte que podría vincular su patogenicidad es el desarrollo de fibrosis en la pared del apéndice cuando este organismo se establece en esa región (Bogitsh *et al.*, 2005).

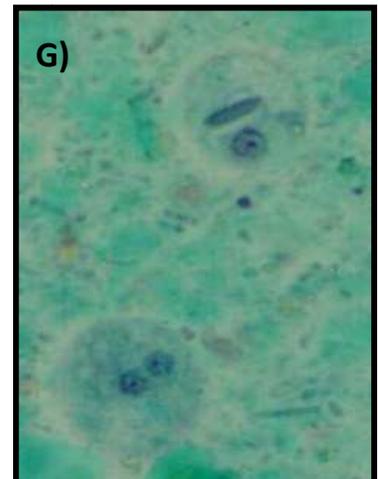
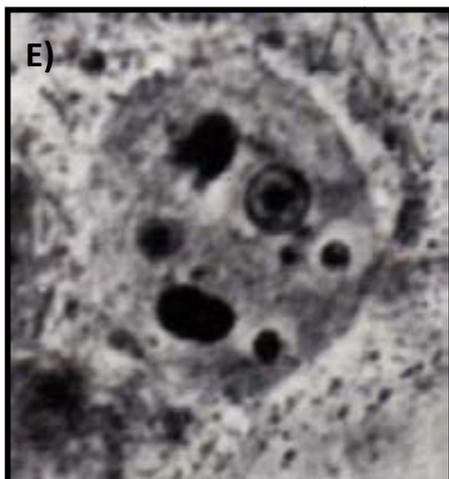
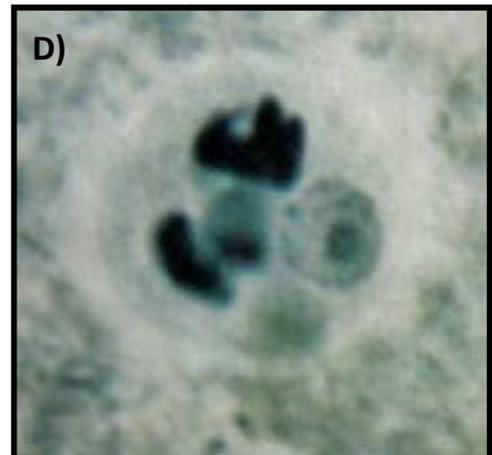


Figura 5. Amebas simbióticas del género *Entamoeba* presentes en el humano; A y B, trofozoíto y quiste de *E. coli*; C y D, trofozoíto y quiste de *E. polecki* (Tomado de Spencer y Monroe, 1961); E, trofozoíto de *E. gingivalis* (Tomado de Lamy, 1980); F y G, trofozoíto y quiste de *E. hartmanni* (Tomado de Beaver *et al.*, 1986). Técnicas de tinción: A y B, hematoxilina férrica, 100X; C, D y F, tricrómica de Gomori, 100X.

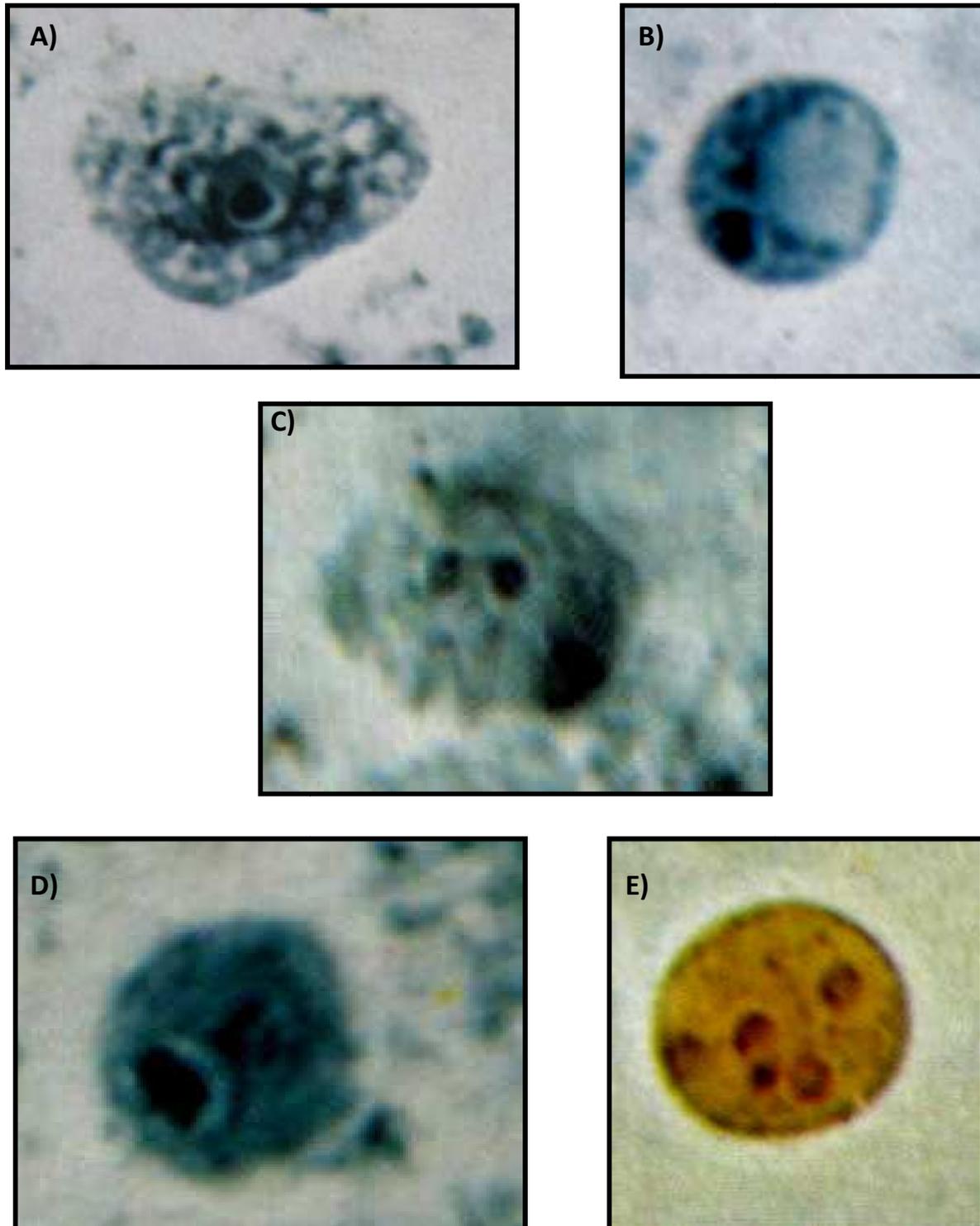


Figura 6. Otros organismos simbióticos tipo ameba presentes en el humano; A y B, trofozoíto y quiste de *Iodamoeba bütschlii*; C, trofozoíto *Dientamoeba fragilis*; E y F, trofozoíto y quiste de *Endolimax nana*. Técnicas de tinción: A-D, tricrómica de Gomori, 100X; E, yodo, 100X (Tomado de Spencer y Monroe, 1961)

CAPÍTULO

3

Enfermedad y Tratamiento.

III. Enfermedad y Tratamiento

3.1 Cuadro clínico

La entamoebosis ocurre cuando un individuo es infectado por quistes de *E. histolytica*; sin embargo, los síntomas dependerán de la condición en que se presente la enfermedad; es decir, de la localización de los trofozoítos, la respuesta del sistema inmune y la carga parasitaria; aunque también cabe decir que otro factor importante es la virulencia de la cepa. (Beaver *et al.*, 1986).

Los individuos que desarrollan la enfermedad pueden catalogarse clínicamente en dos grandes grupos. El primero desarrolla entamoebosis intestinal o luminal, en el cual se presentan un cuadro clínico que puede ser crónico o agudo. En el primero la gravedad es moderada, generalmente no se presentan síntomas por lo que el individuo puede incluso eliminar al organismo de forma espontánea a través de las heces si la carga parasitaria no es muy grande entre dos a ocho semanas después (Beaver *et al.*, 1986). Sin embargo, algunos individuos presentan meteorismo, dolor de la fosa iliaca o hipocondrio derechos, molestia al evacuar o dolores abdominales similares al cólico, así mismo se pueden presentar cuadros de diarrea alternados por constipación ó un poco de sangre en una evacuación normal. Otros síntomas son la anorexia, astenia, cefalea, palidez, irritabilidad, náusea, vómitos y mareos los cuales también aparecen en el cuadro clínico agudo (Biagi, 1976).

En el cuadro agudo los síntomas varían mucho pero en todos ocurren lesiones intestinales a lo largo del colon. Generalmente se presentan diarreas con evacuaciones pastosas ó semilíquidas y con frecuencia de cuatro hasta ocho veces al día, astenia, anorexia, dolor abdominal y hasta fiebre de 40 °C. En individuos más graves, ocurre el cuadro clásico de disentería producto de las lesiones intestinales en el que las diarreas son líquidas acompañadas de sangre y pueden alcanzar una frecuencia de hasta 15 veces al día lo cual pone en serio peligro la vida del enfermo ya que éste sufre una rápida deshidratación. Así mismo se ha reportado que en niños es frecuente la hepatomegalia dolorosa y signos de peritonitis (Biagi, 1976; Beaver *et al.*, 1986).

Los síntomas anteriores son típicos de la enfermedad la cual recibe el nombre de disentería amibiana, pero lo importante en la diagnosis es que al presentarse este cuadro se requiere hacer el estudio apropiado para la identificación de *E. histolytica* porque existen otros agentes que pueden desencadenar disentería, tal es el caso de otros protozoos, platelmintos, nemátodos, bacterias e inclusive algunos rotavirus (Beaver *et al.*, 1986) y por lo tanto el tratamiento puede ser inadecuado y desencadenar a la larga otros problemas.

Los trofozoítos invaden la mucosa y dañan el epitelio provocando inicialmente úlcera primaria, la cual se desarrolla comúnmente en el ciego, el apéndice ó el colon ascendente, pero también puede ocurrir en la región rectosigmoidea (Fig. 7); sin embargo, es posible que el epitelio se repare y con ello deseche la parte dañada ocasionando al mismo tiempo la eliminación de las amebas cuando éstas no invaden más allá de la mucosa (Beaver *et al.*, 1986), lo cual no es muy común pues las amebas suelen penetrar a la parte más profunda, llegar hasta la capa serosa y perforar el peritoneo con lo que la enfermedad se vuelve invasiva. También se puede aumentar el tamaño de la lesión y con ello permitir la entrada de bacterias así como provocar lesiones secundarias en niveles inferiores del colon, como en la región ileocecal y el recto (Chandler y Read, 1961; Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005).

Otra de las complicaciones que se presenta es el granuloma amibiano (ameboma) que aparece por consecuencia de las lesiones intestinales. Éste consiste en un nódulo de consistencia firme el cual esta integrado por una capa edematosa, una cubierta externa fibrosa, una zona granular intermedia con eosinófilos, linfocitos y fibroblastos, y varios abscesos internos de tejido necrótico y trofozoítos (Beaver *et al.*, 1986).

El segundo grupo es el que presenta entamoebosis invasiva y en éste ocurre una migración los trofozoítos que causa lesiones extraintestinales. Este cuadro ocurre por dos causas. La primera como complicación de la disentería amibiana (entamoebosis intestinal aguda), la cual ocurre cuando los trofozoítos perforan el epitelio intestinal como se mencionó antes. La segunda, por la evolución de una entamoebosis intestinal crónica, la

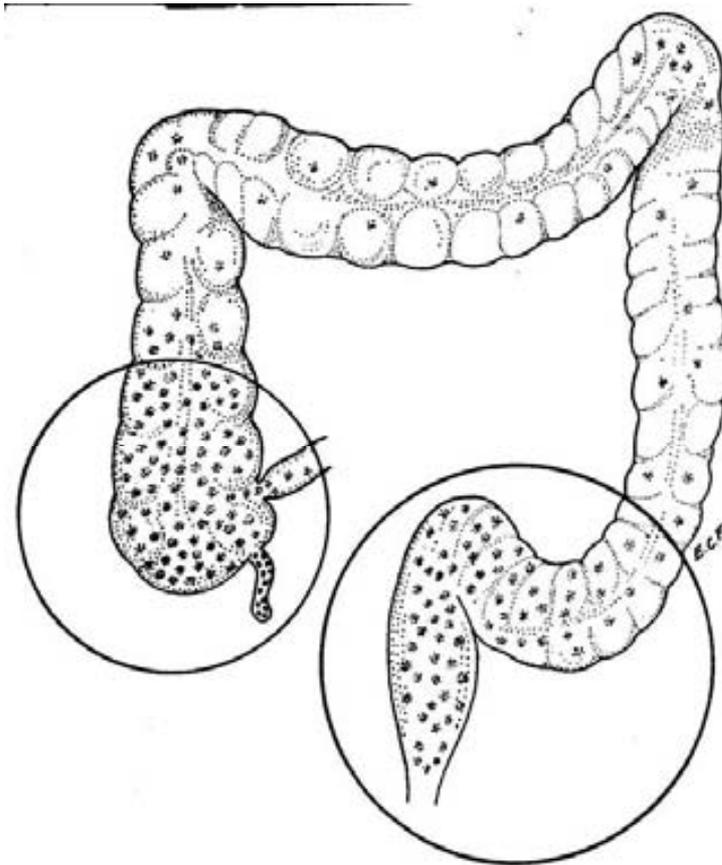


Figura 7. Esquema donde se muestra los sitios donde *E. histolytica* causa lesiones mas frecuentes en el colon. El círculo izquierdo indica la región cecal y el derecho la región rectosigmoidea. (Tomado de Beaver *et al.*, 1986),

cual resulta muy peligrosa cuando ocurre por un cuadro asintomático, el cual perdura hasta esta fase. Ambos casos se caracterizan por tener como órgano blanco más común al hígado, siendo típica la invasión al lóbulo derecho ya que los trofozoítos suelen alcanzarlo cuando entran en la vena porta (Chandler y Read, 1961; Kudo, 1966; Beaver *et al.*, 1986; Bogitsh *et al.*, 2005).

Las amibas se implantan en el hígado y al principio no causan reacción inflamatoria sino hasta que las colonias invasoras aumentan de tamaño y producen necrosis lítica de los hepatocitos, lo cual desencadena una respuesta inmune con leucocitos produciendo hepatitis amibiana que puede autolimitarse en algunos casos (Biagi, 1976), pero que frecuentemente una o varias de estas lesiones crecen y forman un absceso amebiano que



en sus primeras etapas se presenta como una masa sólida pequeña de unos cuantos milímetros de color blanco pero posteriormente crecen y su contenido se hace gelatinoso y amarillento (Biagi, 1976; Beaver *et al.*, 1986). Finalmente se forma una cavidad llena de líquido rojo oscuro que contiene desechos celulares. En los caso con lesiones crónicas se forma también una pared dura de naturaleza fibrosa (Beaver *et al.*, 1986).

Se ha observado que más de la mitad de las lesiones del lóbulo derecho del hígado terminan por afectar el diafragma lo que permite una invasión hacia la pleura del pulmón del mismo lado pero esta invasión también puede ocurrir de forma independiente por la metastación del intestino. La entamoebosis pulmonar entonces lleva a la expectoración de esputo color rojo (Biagi, 1976; Tay *et al.*, 2002).

En otros casos ocurre la migración hacia colon, peritoneo libre, órganos abdominales e incluso a través de la pared torácica siendo muy común la invasión al pericardio cuando el absceso hepático se asienta en el lóbulo izquierdo (Chandler y Read; 1961; Biagi; 1976; Bogitsh *et al.*, 2005).

Otros sitios donde encontramos cuadros por entamoebosis invasiva son la piel y el cerebro los cuales no constituyen un cuadro clínico específico ya que rara vez se presentan. En los caso cuando hay invasión de piel hay una ulceración de los tegumentos muy similar a las leishmaniosis cutánea, mientras que en los casos de la invasión cerebral se observa la formación de abscesos como en el hígado y al cual solo se le añade a la sintomatología neurológica (Beaver *et al.*, 1986; Tay *et al.*, 2002; Bogitsh *et al.*, 2005).

3.2 Tratamiento

La entamoebosis es una enfermedad que requiere ser detectada lo antes posible para administrar el mejor tratamiento ya que conforme esta se va complicando se requieren tratamientos más agresivos que pueden traer como consecuencia efectos secundarios severos al enfermo. La identificación del organismo es indispensable porque como se mencionó anteriormente, existen otras amebas cuya relación con el humano no es patógena, salvo algunos casos donde aún no queda claro este punto (Tay *et al.*, 2002).

Actualmente se utiliza metronidazol (Fig. 8), tinidazol y ornidazol como los fármacos para tratar la amebiasis a cualquier nivel siendo muy usado el primero. Los tres compuestos pertenecen al grupo 5-nitro-imidazol, y son derivados heterocíclicos con un núcleo de cinco átomos y un radical NO_2 (Pérez-Trallero e Iglesias, 2003).

El metronidazol ha sido ampliamente usado porque se absorbe con gran facilidad y esto permite que pueda ser empleado en los casos de amebiasis intestinal y sistémica, ésta última gracias a que puede llegar por la sangre hasta los trofozoítos que invaden tejidos. Su acción antiprotozoaria depende de su reducción química intracelular donde interactúa con el ADN provocando pérdida de la estructura helicoidal y rompimiento de las bandas lo que lleva a la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y como consecuencia a la muerte celular (Juárez, 1998).

Este fármaco es de fácil empleo pues consiste en tabletas que se administran vía oral, además de ser económico y se puede adquirir sin receta médica. Por lo general se indica una dosis de 40 mg/kg de peso corporal/día, durante 10 días (Tay *et al.*, 2002).

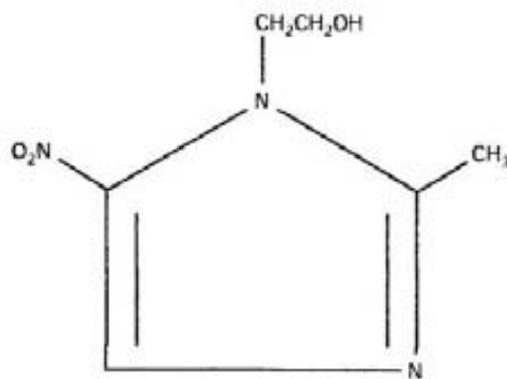


Figura 8. Estructura de la molécula de metronidazol (Tomado de Perez-Trallero e Iglesias, 2003).



También se recomienda el tratamiento con antibióticos para prevenir infecciones secundarias causadas por bacterias ya que el uso de metronidazol permite de alguna manera su establecimiento por lo que se recomienda la administración de tetraciclina, la cual puede usarse junto con el metronidazol. Así mismo es importante guardar reposo, una dieta blanda baja en carbohidratos pero rica en proteínas, así como beber muchos líquidos para la recuperación de agua que se va perdiendo con la diarrea y para degradar rápidamente el medicamento (Bogitsh *et al.*, 2005). También esta indicada la solución de clorhidrato de emetina al 6 % por vía subcutánea o intravenosa en dosis de 1 mg/kg de peso corporal no mayor a 60 mg/día para desaparecer los síntomas pero no puede erradicar en este nivel la infección (Biagi, 1976; Beaver *et al.*, 1986; Tay *et al.*, 2002).

En los casos que el enfermo no presenta síntomas pero se detecta la presencia del parásito se recomienda hacer un tratamiento menos agresivo para destruir a los trofozoítos usando yodoquinol ó paromocina, esta última usada en personas alérgicas a compuestos con yoduro (Bogitsh *et al.*, 2005).

Los casos de absceso hepático son un poco más difíciles de tratar con metronidazol cuando la enfermedad esta muy avanzada por lo que se receta clorhidrato de emetina 1 mg/Kg. de peso corporal/día pero sin exceder los 60 mg/día durante un máximo de cuatro días. Este medicamento se administra por vía subcutánea o intravenosa y se recomienda la hospitalización del paciente para vigilar la toxicidad ya que este fármaco afecta seriamente al miocardio y nervios periféricos. Otra opción es el uso de deshidroemetina que resulta ser menos tóxica y el fosfato de cloroquina que resulta eficaz en el absceso porque se concentra en el hígado, el cual se recomienda en una dosis inicial de 1 g de difosfato de cloroquina (0.6 g de base) vía oral durante dos días, seguida de 0.5 g (0.3 g de base) por día durante dos a tres semanas (Biagi, 1976; Beaver *et al.*, 1986; Tay *et al.*, 2002).

Por otro lado es importante resaltar que el empleo del metronidazol desde que fue sintetizado y su uso por casi 50 años, ha traído como consecuencia la aparición de cepas

resistentes al fármaco, tal como lo han demostrado varios trabajos (Upcroft y Upcroft, 2001).

Actualmente se están llevando a cabo el desarrollo de derivados del tipo 5-nitroimidazoles para combatir a las cepas resistentes (Upcroft *et al.*, 1999), entre los que destaca un nuevo fármaco denominado ornidazol, el cual se ha reportado que cura los abscesos en una sola dosis aunque este se encuentra en fase experimental aún y no esta disponible en muchos países (Bogitsh *et al.*, 2005).

CAPÍTULO

4

La Búsqueda de Nuevos Tratamientos.

IV. La búsqueda de nuevos tratamientos

Actualmente el mejor tratamiento contra la entamoebosis es el metronidazol ya que resulta un fármaco eficaz y con la posibilidad de administrarlo oralmente, además que lo distribuye una gran cantidad de laboratorios ya que es un medicamento que resulta ser bastante barato. Existen productos de marcas comerciales y los genéricos intercambiables cuyos precios en la Ciudad de México durante el año 2008 son entre \$6.00 y \$196.00 (cuadro 1).

La gran facilidad con que este medicamento es absorbido lo lleva a alcanzar altas concentraciones en saliva, bilis, líquido seminal, leche, pulmones, hígado y abscesos hepáticos; razón por la que es importante considerar ciertos efectos secundarios. Se tiene bien documentado que el metronidazol se contraindica en casos de hipersensibilidad, discrasias sanguíneas, lesiones orgánicas activas del SNC, durante el embarazo y la lactancia. Tampoco se debe ingerir bebidas alcohólicas porque provoca reacciones disulfirámicas, así como el uso de anticoagulantes orales ya que aumenta su efecto. Así mismo se conoce que interactúa con alimentos, azotiprina, barbitúricos, bloqueantes, neuromusculares, ceftazidimina, cimetidina, clindamicina, disulfiram, espiramicina, fenobarbital, fluorouracila y ritonavir (Juárez, 1998).

Las reacciones adversas observadas son náuseas, vomito, malestar gastrointestinal, sabor metálico, sequedad de la boca, erupción cutánea, prurito, leucopenia, neuropatía periférica, tromboflebitis, oscurecimiento de la orina y en dosis altas convulsiones (Aguirre-Cruz *et al.*, 1990; Juárez, 1998; Barbosa, 1999; Lievano, 1999 y Guzmán, 2006).

En un estudio realizado en personas de 18 a 50 años de edad se compararon los efectos del fármaco encontrándose que el 77.8 % de los pacientes presentaron efectos colaterales como náuseas, dolor abdominal y vómitos, todos ellos síntomas clásicos de enfermedad gástrica erosiva del tipo medicamentosa. Las náuseas se reportaron en el 37 % de los pacientes de los cuales el 70 % de este grupo las consideró de poca intensidad; el dolor abdominal se manifestó en el 21.88 % y la intensidad fue referida como en el caso anterior. El vómito se presentó en el 18.75 % posterior a la ingesta del medicamento de

los cuales se reportó que hubo hasta tres repeticiones del acto en el 46.2 %. La cefalea se presentó en menor cantidad de pacientes (10.94 %) y se refirió como de poca intensidad. Por último se presentó diarrea en el 6.25 % de los pacientes con evacuaciones de tres a cuatro veces diarias, la cual desapareció al suspender el tratamiento en el 75 % de estos pacientes y en el resto de manera espontánea. Dos efectos menores son la congestión facial la cual se presentó en el 3.13 %; mientras que el efecto disulfiran se reporta en el 1.56 % lo cual provocó el abandono del tratamiento (Juárez, 1998).

Debido a estas complicaciones se ha requerido hacer estudios con otro tipo de farmacoterapia pues los reportes indican que el metronidazol puede ser hasta cierto punto tóxico (Lievano, 1999).

En recientes estudios se ha reportado que el metronidazol también ocasiona mutaciones en bacterias y cáncer en roedores así como la aparición de cepas de *E. histolytica* resistentes al mismo (Sawangjaroen *et al.*, 2004; Calzada *et al.*, 2005; Reyes *et al.*, 2005; Barrón-González *et al.*, 2006; Calzada *et al.*, 2006; Cimanga *et al.*, 2006); sin embargo, aún no se comprueban efectos mutagénicos en roedores ni el desarrollo de cáncer en humanos (Padayachee y Odhav, 2001).

Debido a que existe un problema con la administración del metronidazol se ha hecho necesario realizar estudios con nuevos fármacos, o bien, buscar nuevas alternativas para el tratamiento de la amebiasis.

4.1 Estudios de plantas medicinales

Desde la antigüedad los médicos tradicionales y/o curanderos utilizan las plantas como fuentes de obtención de medicamentos por lo que éstas son de gran importancia desde entonces. Las propiedades medicinales que presentaban las plantas se fueron conociendo desde tiempos ancestrales, donde se observó que algunos animales enfermos o heridos se curaban al comer o frotarse ciertas plantas. De ahí se empezó a investigar las propiedades que estas presentaban y en sus ensayos se encontraron algunas que resultaban ser venenosas mientras que otras conseguían curar los padecimientos, con lo que se fue

generando un conocimiento que permitió elaborar farmacopeas en todo el mundo y con ello posteriormente la obtención de medicamentos que fueron elaborados por síntesis química en laboratorios (Uruchurtu, 2007).

En cuanto al tratamiento de la amebiasis, las investigaciones con respecto a la creación de nuevos fármacos ha sido constante en los últimos 25 años cuando se retomó el estudio de plantas usadas en contra de la amebiasis, la disentería y otros padecimientos gastrointestinales. Esta ha sido una tarea que a nivel mundial que ha llevado al estudio de las plantas que se utilizan en la medicina tradicional en todo el mundo, sobre todo en aquellos países de tercer mundo donde este conocimiento es amplio y se mantiene todavía hasta la actualidad.

Muchos de los trabajos están enfocados a probar extractos que presenten efectos en contra del agente patógeno y al mismo tiempo también se busca aislar sustancias cuya actividad sea similar o comparable con los fármacos convencionales usados en el tratamiento contra *E. histolytica* (Segura *et al.*, 1990; Osuna *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2007).

Una de las plantas que se ha estudiado desde hace años es el chaparro amargoso (*Castela erecta texana*), el cual es una planta que se reporta con uso contra la amebiasis y de la cual ya se han estudiado los efectos de sus extractos acuoso, metanólico, algunas fracciones intermedias, así como algunos de sus compuestos aislados como la chaparrina de la que se han obtenido resultados muy interesantes en pruebas *in vitro* contra *E. invadens* (Calzado-Flores *et al.*, 1986; Kubo *et al.*, 1993; Calzada, 2000; Calzado-Flores *et al.*, 2000; Díaz de León, 2005). De hecho los estudios han demostrado que el extracto acuoso de esta planta posee propiedades anticancerígenas y antígenotóxicas (Reyes *et al.*, 2005) por lo que se ha tomado muy en cuenta esta planta para crear un nuevo fármaco que sustituya al metronidazol.

Cuadro 1: Lista comparativa entre los precios de las diferentes marcas y presentaciones comercializadas de metronidazol en la Ciudad de México durante el año 2008.

Nombre Comercial	Concentración (mg)	Presentación	Precio (M. N.)
Flagyl	125	Suspensión (120ml)	\$42.50
	250	Suspensión (120ml)	\$70.50
	250	Comprimidos (30)	\$34.50
	500	Comprimidos (30)	\$64.50
	500	Óvulos (10)	\$50.50
	500	Solución bsa (100ml)	\$84.00
Epaq	NM	Gel (40g c/5 aplicaciones)	\$196.00
Flagelase	400	Cápsulas (30)	\$64.00
	400	Suspensión (120ml)	\$59.00
Nidrozol	125	Solución (120ml)	\$30.24
	500	Tabletas (20)	\$34.00
Servizol (Lab. Sandoz)	200	Suspensión (120ml)	\$53.00
	250	Tabletas (30)	\$35.00
	500	Grageas (30)	\$55.00
Vertisal	125	Suspensión (180ml)	\$68.80
	200	Ampolleta (2 x 10ml c/2 jeringas)	\$57.40
	200	Ampolleta (2 x 10ml)	\$37.44
	250	Suspensión (180ml)	\$98.00
	400	Cápsulas (40)	\$98.00
	500	Ampolleta (1 x 10ml)	\$57.40
	500	Ampolleta (3x 10ml c/3 jeringas)	\$34.36
G.I			
Biotazol	250	Suspensión (120ml)	\$15.00
	500	Tabletas (30)	\$10.00
Samonil	125	Suspensión (120ml)	\$10.00
	250	Tabletas (20)	\$6.00
Metronidazol (Lab. Baxter, Ivax, Lamery, Pisa, Química y Farmacia, Rimsa, Aventis Pharma)	200	Ampolleta (2)	\$29.90
Metronidazol (Lab. Silanes, Tecnofama)	200	Ampolleta (2 x 10ml)	\$28.50
Metronidazol (Lab. Randall) (Lab. Bruluart, Farmadem)	200	Suspensión Tabletas	\$28.50
Metronidazol (Lab. Protein)	200	Óvulos	\$28.50

G. I.: Genérico Intercambiable; NM: No mencionado; M. N.: Moneda Nacional (Tomado de: http://www.facmed.unam.mx/catalogo/imprime_todos.php?id_muestra=376, consultado el 21 de febrero de 2008).

Se han encontrado otras plantas cuya actividad ha llevado a realizar los primeros estudios con este carácter tal como sucede en el caso de la pata de león (*Geranium mexicanum*) cuyos compuestos aislados han demostrado tener una actividad también muy importante contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* (Calzada, 2000; Calzada *et al.*, 2005). Este tema ha sido la base de trabajos de tesis de licenciatura, maestría y doctorado; todos ellos producidos en la Unidad de Productos Naturales de la Facultad de Química, UNAM (Alanis, 2000; Barbosa, 2000 y Calzada, 2000), dando evidencia científica del uso medicinal de estas plantas. De hecho muchas otras plantas están siendo actualmente probadas por el equipo del Dr. Fernando Calzada Bermejo a través de pruebas *in vitro* contra *E. histolytica* y *G. lamblia* (Calzada *et al.*, 1998; Alanis *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2005; Calzada *et al.*, 2006; Arrieta *et al.*, 2001; Barbosa *et al.*, 2007).

Otros investigadores que han participado con el equipo anterior han realizado estudios con plantas de la medicina tradicional maya. Uno de estos estudios publicado recientemente demostró que la actividad antiprotozoaria de los extractos metanólicos de diferentes partes de *Senna racemosa* es bastante efectiva por lo que se considera una especie con gran potencial farmacológico (Moo-Puc *et al.*, 2007).

Otros estudios han probado las fracciones con agua, metanol, diclorometano, acetona y hexano para observar si en las fracciones de cada una de ellas podrían encontrar compuestos con mejor actividad contra *E. histolytica*. Un caso de este tipo se realizó con *Artemisia ludoviciana* una planta usada en el norte del país para combatir muchos agentes entre ellos los causantes de diarreas. En dicho trabajo se encontró actividad antiprotozoaria a concentraciones superiores de 100 µg/ml en promedio para todas las fracciones, lo cual mostró que esta planta tiene un efecto moderado contra los protozoos (Said *et al.*, 2005).

Otros estudios que se han realizado con otras plantas intentan validar el uso de las mismas en algunos países como sucede en Cuba. En este caso encontramos que se han probado plantas como *Artemisia absinthium*, *Petiveria alliacea*, *Stachytarpheta jamaicensis* y *Teloxys ambrosioides*, todas ellas de usadas en la medicina tradicional

contra infecciones gastrointestinales provocadas por bacterias y protozoos. En dichos trabajos se muestra los efectos de diferentes extractos para encontrar evidencia del efecto medicinal de las plantas (Echevarria y Torres, 2000; Guerra *et al.*, 2001).

Los trabajos en otros países han encontrado compuestos en diferentes partes de las plantas usadas en la medicina tradicional contra la amebiasis (Tona *et al.*, 1998). Uno de estos trabajos con *Clorophora excelsa* y *Virgilia oroboides*, dos plantas de las cuales se aislaron la cloroforina, la maackiaina, la formononetina y el iroko; se encontró que la cloroforina es un compuesto que presenta una actividad antiamebica notable (0.25 µg/ml) que promete tener implicaciones en la industria farmacéutica porque la dosis es equiparable a la del metronidazol, además no presenta actividad citotóxicas ni mutagénicas (Padayachee y Odhav, 2001).

Otro estudio prueba tres plantas de la medicina tradicional tailandesa donde se hicieron las pruebas con ratones administrándoles los extractos metanólicos del fruto de *Piper longum*, la raíz de *P. sarmentosa* y la bellota del encino (*Quercus infectoria*). De éstos se obtuvo que los extractos administrados disminuyeron las lesiones intestinales causadas por la amebiasis observadas en los ratones infectados en comparación con los del grupo control y se observó un efecto dependiente de la dosis (Sawangjaroen *et al.*, 2004)

En otros estudios biodirigidos se han probado todos los extractos crudos posibles antes de fraccionar hasta aislar compuestos. Uno de ellos es el estudio de los efectos citotóxicos y de pruebas *in vitro* con *E. histolytica* evaluando los extractos de las hojas de *Morinda morindoides* una planta muy usada en la medicina tradicional de República del Congo, donde se prueban los extractos acuosos y orgánicos obtenidos de esta planta dando muy buenos resultados al respecto. Así mismo, se realiza el aislamiento de cada compuesto y se prueba para observar su efecto dando una amplia variedad de compuestos con potencial farmacológico (Tona *et al.*, 1998; Cimanga *et al.*, 2006).

4.2 *Otras alternativas de tratamiento*

Existen otras alternativas para el tratamiento de la amebiasis; una de ellas es el desarrollo de una vacuna recombinante que se administre vía oral y que dote de inmunidad a las personas contra el parásito (Guzmán, 2006).

4.2.1 Vacuna. El tema sobre la vacuna contra la entamoebosis aún se encuentra en fase de investigación. Actualmente los estudios más recientes sugieren bloquear la ligadura de unión de lectina Gal/GalNAc a través de diversos mecanismos. Uno de ellos es creando anticuerpos IgA que reconozcan esta ligadura, al administrar una vacuna que contenga a la cadena de aminoácidos pesada (170-kDa) que constituye a la lectina nativa de *E. histolytica* y que participa como una proteína de adhesión al intestino, pero los resultados experimentales en ratones y jerbos han demostrado que ocurren efectos que agudizan la enfermedad. Sin embargo, en otros estudios se encontró que al fusionar la secuencia purificada de los aminoácidos 578-1154 de la cadena pesada de 170-kDa con la subunidad B de la toxina colérica se logra una mayor inmunidad sin efectos agravantes. Pero también se están estudiando otras proteínas de membrana involucradas en la adhesión al epitelio intestinal, tales como la SREH que es una proteína con un dominio rico en serina que se fusiona con toxinas coléricas formando el complejo SREH/CtxA2/CtxB que son introducidas en cepas atenuadas de *Vibrio cholera* y *Salmonella* sp, las cuales ya han sido exitosamente probadas en primates (Snow y Stanley, 2006).

Finalmente otra de las proteínas candidatas es el complejo EhADH112 que consiste en una adhesina (proteína de adhesión) que se une a la cisteína proteolítica 112 y que al parecer esta involucrada en la virulencia de las cepas de *E. histolytica*. Usando péptidos recombinantes de la región C terminal de 243 aminoácidos, los cuales son inoculados vía subcutánea, han demostrado que inmunizan contra el absceso hepático en modelos de hámster de la enfermedad (Guzmán, 2006; Snow y Stanley, 2006).

La vacuna debe entre otras cosas promover la producción de los anticuerpos IgA que interaccionen contra cualquiera de los antígenos estudiados y eviten la adhesión al epitelio intestinal, pero los mayores estudios se han enfocado utilizar como vector la

toxina de *Vibrio cholerae* (Stanley, 1997; Guzmán, 2006; Snow y Stanley, 2006) ya que promueve la transcripción del gen interleucina-12 que lleva a aumentar la producción de IgA en macrófagos humanos (Campbell *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2002). En algunas pruebas ya se logró la curación del absceso hepático en ratones (Radvin *et al.*, 2003); sin embargo, el uso de la toxina presenta muchos problemas, por lo que se está estudiando otras bacterias que pudieran servir para este fin (Guzmán, 2006).

También existe la opción de utilizar otra proteína de membrana denominada PPG/LPG que es una proteína muy abundante en la membrana de *E. histolytica* que contienen azúcares, fosfatos y un componente peptídico, la cual genera una respuesta inmune alta. Además los anticuerpos para esta molécula bloquean la adhesión al intestino, no obstante que es posible el uso de péptidos miméticos que produzcan anticuerpos capaces de reconocer la molécula PPG/LPG por lo que representan una potencial vacuna que se tiene que probar experimentalmente. También otra ventaja de las moléculas PPG/LPG es que son capaces de unirse a los receptores de TLR-2 y TLR-4 de humanos y estimular una respuesta inmune innata (Snow y Stanley, 2006).

4.2.2 Probióticos. Otra alternativa que se está estudiando también es la administración de ciertos probióticos, ya que se ha observado que estas bacterias benéficas compiten por el espacio de adherencia en el intestino impidiendo que otros organismos se establezcan, y también segregan sustancias de defensa que pueden atacar a otros agentes o bien desencadenar la respuesta inmune del cuerpo, así como prevenir alergias y proteger de eventos cancerígenos en el colon (García, 2006; Vargas, 2006; López, 2007). Recientemente se demostró que la administración de *Sacharomyces boulardii* junto con metronidazol disminuyó la duración de los síntomas y causó la curación completa en cuatro semanas (Fariborz *et al.*, 2003); mientras que en otro trabajo también se demostró que existe una inhibición del crecimiento axénico *in vitro* de *E. histolytica* cuando se les administra liofilizados de las bacterias *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* y *Lactococcus lactis* (Barrón-González *et al.*, 2006).

4.2.3 Fitomedicamentos. Esta alternativa ha tenido un desarrollo importante en Europa y los Estados Unidos donde se reporta que 40 % del mercado farmacéutico proviene de estos productos, lo cual no es raro ya que en los últimos años se ha incrementando la necesidad de disponer de medicamentos cada vez más seguros y eficaces cuyo uso en la terapéutica sea racional desde el punto de vista científico en el que participa también la innovación farmacológica y el diseño de nuevos tratamientos etiológicos para enfermedades de las cuales aún no se dispone de una cura, lo cual es importante mencionar porque se sabe que de las dos mil enfermedades agudas y crónicas registradas solo el 30 % se pueden curar satisfactoriamente (Alonso, 2001; Wagner, 2006).

Los fitomedicamentos surgen de una de las dos vertientes de de la fitoterapia denominada fitomedicina, en la cual, se aprovecha el conocimiento ancestral y popular apoyándose de la metodología científica, donde es necesario el estudio de plantas y preparaciones que han sido empleados por siglos y cuyo inclusión en la farmacia moderna puede elevar el numero de drogas que se podrían emplear en el tratamiento de diversos padecimientos (Wagner, 2006).

De acuerdo con cifras de la OMS, en 1994 el 80 % de la población mundial depende para su atención primaria de los recursos de la medicina tradicional. No obstante, se ha reportado que las muertes por intoxicación relacionadas al uso de plantas medicinales constituye solo el 3 % de los casos hospitalizados, cifra que resultó ser menor en comparación del 20 % de los casos por uso de medicamentos sintéticos y otros productos químicos tóxicos (Alonso, 2001).

Actualmente se sabe que de las 300 000 especies vegetales existentes solo el 30 % ha sido investigada de forma científica, incluidas las plantas medicinales. En México se sabe que por lo menos existen 20 000 especies medicinales de las cuales solo el 1 % ha sido investigada (Alonso 2001; Wagner, 2006).

Los trabajos de muchos investigadores en todo el mundo han dado como resultado la validación científica de muchas especies plantas usadas en la medicina tradicional de muchos países que en algunos casos han dado como resultado también la elaboración de

fitomedicamentos (Venaclocha y Cañigueral, 2003; Alonso, 2004). En el cuadro 2 se enlistan algunos de los fitomedicamentos más comercializados en la Unión Europea para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales.

Cuadro 2. Fitomedicamentos contra desordenes gastrointestinales más comercializados en la Unión Europea.

Fitofármaco compuesto	Fitofármaco en Fórmula
13 Colisol Antidiarreico	Capsulas laxantes con fibra vegetal
ACPG (EL naturalista)	Macerado Laxante
Acofarma	Tisana antidiarreica I
Artesania Agricola	Tisana antidiarreica II
Bellsolá	Tisana carminativa III
Bromatos SL	
Cenat	
Dextricea	
Dietisa	
Dr. Pina Diarrea	
Limosella Digestivo	
Manzanilla-Ducal Digestivo	
Planta-Pol	
Tanagel "R"	
Tanagel	

Tomado de: Venaclocha y Cañigueral S., 2003

CAPÍTULO

5

Plantas Medicinales de Estudio.

V. Plantas medicinales de estudio

5.1 Chenopodium ambrosioides Linnaeus, 1753 (Chenopodiaceae)

Esta planta es conocida con el nombre común de epazote (Fig. 9) y su conocimiento por parte de la gente es amplio ya que forma parte de aquellas que se utilizan en la cocina como condimento de muchos platillos. Su distribución abarca la mayoría de los estados de la República Mexicana: Baja California Norte, Campeche, Coahuila, Chiapas, Chihuahua, Distrito Federal, Durango, Hidalgo, México, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas (Aguilar *et al.*, 1994 a y b).



Figura 9. Ejemplar de *Chenopodium ambrosioides* donde se aprecia con detalle las hojas dentadas que lo caracterizan. Epazote, palabra de origen náhuatl (epazotl) es el nombre más común en México para a esta planta.



Debido a su amplia distribución en el territorio mexicano se le encuentra con muchos otros nombres en español y lengua indígena. Entre los nombres en español que reportan diferentes autores están los siguientes:

Epazote blanco (Oaxaca), epazote cimarrón y pasote criollo (Hidalgo); epazote de comer, epazote de zorrillo y epazote morado (México); ipazote (Tamaulipas) y pasote (Sonora); aunque resulta muy importante mencionar que en muchos lados se utiliza más el de epazote (Reiche, 1963; Díaz, 1976; Martínez, 1979, 1989; Aguilar *et al.*, 1994 a y b; Castillo *et al.*, 2007).

Por su parte los nombres en lengua indígena son: a-mhu-hum, a-mhu-jum y o-gi-mó (chinanteca); alskini (tepehua), bitia y batiáa (zapoteca); cuatsitasut'ats (tarasca), cuatzitish-atcingo (purhé), dali e ih-van-o (cuicatleca), epazotl y yepazotl (náhuatl), gail, jogañai, ngail y ñodi (otomí); jui-yé (chontal), lukum-xiu (maya, Yucatan), minu (mixteca), pu 'undétl (mixé), sa 'ka-hka 'jna, stani' y xkejet (totonaca); shutpájuic y shuppujuic (popoluca); tij-tzan y titchán (huasteca) y vi-tia (zapoteca); entre otras más denominaciones de las cuales probablemente no se tenga la información recopilada al respecto (Martínez, 1979, 1989; Aguilar *et al.*, 1994 a y b).

5.1.1 Descripción botánica. Esta planta pertenece a la familia Chenopodiaceae siendo muy común encontrarla a la orilla de los caminos y terrenos baldíos, aunque también es una especie que se cultiva y se puede encontrar a la venta en los mercados. (Aguilar *et al.*, 1994 b).

Chenopodium ambrosioides Linnaeus, 1753; es una hierba anual perenne, erguida o ascendente, frecuentemente olorosa, glandulosa, de 40 cm a 1 m de alto; tallo simple o ramificado; hojas pecioladas, oblongas a lanceoladas, de 3 a 10 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho, gradualmente reducidas hacia la parte superior, subenteras o sinuado – dentadas; inflorescencia en forma de espigas con numerosas flores, dispuestas en panícula piramidal, con o sin hojas interpuestas; perianto de 1 mm de largo, glanduloso, envolviendo el fruto, pericarpio delgado que se desprende fácilmente, glanduloso, semilla horizontal o vertical, de unos 0.7 mm de diámetro, con el margen obtuso, negra, brillante

y lisa. Distribuido ampliamente en el Valle de México, aunque no es muy común pero se ha reportado que crece entre los 2 250 – 2 350 msnm. La planta es originaria de América pero ha sido naturalizada en regiones cálidas y templadas del Viejo Mundo. (Rzedowski y Rzedowski, 2005).

5.1.2 Usos medicinales de la planta. Se ha reportado su uso para el tratamiento de las amebas, dolor de estomago, vermífugo, empacho y sazoador de los frijoles. También se utiliza contra la corea y el mal de San Vito, para sudar, facilitar la orina, y liberar la menstruación detenida por atonía del útero. Así mismo, la gente lo consume como quelite o condimento de alimentos (Aguilar *et al.*, 1994 a y b).

En cuanto a su uso medicinal se recomienda para las amebas y otras parasitosis como lombrices utilizándola como infusión, agua de tiempo, cocido en agua y ajo serenado por una noche y como infusión con leche. Todas estas recetas requieren desde cuatro hojas hasta 20 g/L de agua (Martínez, 1989; Aguilar *et al.*, 1994 a y b).

De esta planta se aislado un aceite denominado ascaridol (1-metil-4-(1-metiletil)-2,3-dioxabicyclo [2.2.2]oct-5-eno), el cual es un monoterpeno bicíclico que contiene un puente de peróxido en el grupo funcional (Fig. 10). Su actividad fisiológica produce efectos paralizantes y narcóticos en nemátodos de los géneros *Ascaris* y *Ancylostoma* lo que produce que se desprendan del intestino y explique su acción vermífuga; sin embargo, esta sustancia se considera un veneno eficaz cuando se administra en grandes cantidades causando los mismo efectos fisiológicos en humanos y produciendo la muerte, por lo que no se debe abusar de su uso ni sobrepasar las dosis recomendadas en su uso tradicional (Aguilar *et al.*, 1994 b; Vizoso *et al.*, 2000).

Anteriormente el aceite de quenopodio había sido comercializado por BAYER en muchos países durante la década de 1940 pero fue retirado de muchos mercados por los efectos tóxicos que produjo en personas que sobrepasaron las dosis recomendadas (Simpferndorfer, 1944).

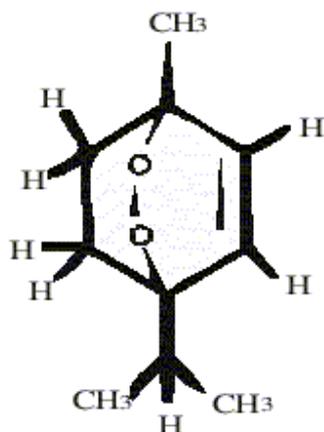


Figura 10. Estructura química de la molécula del ascaridol. (Tomado de Vizoso *et al.*, 2000)

5.2 *Castela erecta* (Turpin, 1806) *texana* (Torr. y Gray, 1840) Cronquist, 1945 (Simarubaceae)

Es una planta que se distribuye en el noreste del país y el Valle de Tehuacán en Puebla la cual hasta hace poco se reconocía con los nombres de *Castela texana* Rose, 1909 y *C. tortuosa* Liebm, 1853 (corregido por Small, 1911), con los cuales aún se les denomina en la literatura científica y de divulgación (Díaz de León, 2005; Mendoza y Godínez, 2007).

En realidad el nombre de *C. texana* Rose, 1909 fue muy aceptado porque este se publicó con prioridad por Stanley (1923) en la obra *Trees and Shrubs of Mexico* sobre otros nombres que se daban a la misma especie tales como *C. nicholsonii* Hook, 1830; *C. nicholsonii* (Hook, 1830) *texana* (Torr y Gray, 1840); *C. tortuosa* Liebm, 1853; *Castelaria tortuosa* Liebm, 1853 (corregido por Small, 1911) y *C. texana* Torr. y Gray, 1840 (corregido por Small, 1911). Actualmente las investigaciones realizadas por el Instituto de Biología, UNAM en las que se revisaron y compararon ejemplares del género *Castela* concluyeron que la especie que se distribuye desde el sur de Texas, EUA hasta Oaxaca, México, así como en las regiones adyacentes de Venezuela y el norte de Colombia tiene similitud a la especie *Castela erecta* que se distribuye en las Islas Galápagos, por lo que se decidió



nombrarla como *Castela erecta* (Turpin, 1806) *texana* (Torr. y Gray, 1840) Cronquist, 1945 (Fig. 11) en donde se atribuyó la especie *erecta* a Turpin por ser el más antiguo al registrarla en 1806, mientras que *texana* a Torr. y Gray quien describió la subespecie y finalmente el nombre actual a Cronquist quien clasificó tres subespecies de la especie *C. erecta* en base a su distribución geográfica (Díaz de León, 2005).

El nombre popular más común para esta especie es el de chaparro amargo y es una planta muy conocida en los estados de Coahuila, Durango, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora y Tamaulipas. Los otros nombres con los que se le denomina, son: Amargoso y corona de Cristo (Nuevo León); bisbirinda (Tamaulipas), chaparro y palo copache (Durango); chaparro amargoso (Coahuila y Distrito Federal), hierba del perro (San Luis Potosí), venenillo y xixontlé (Valle de Tehuacán, Puebla) y palo amargoso (Oaxaca). (Díaz, 1976; Martínez, 1979; Martínez, 1989; Sánchez, 1990; Aguilar *et al.*, 1994 a y b).



Figura 11. *Castela erecta texana*. A la izquierda la planta completa, a la derecha arriba un acercamiento de las hojas y abajo un acercamiento donde se muestra la flor (Tomado de: http://uvalde.tamu.edu/herbarium/final/cate_wp.jpg. Consultado el 21 de febrero de 2008).

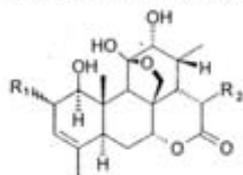


5.2.1 Descripción botánica. En cuanto a su descripción tenemos que se trata de un arbusto leñoso de hasta 2.5 m de altura, la corteza es de color grisácea. Los tallos y ramas presentan espinas alternadas de 5 a 6 cm de largo de las que salen otras más pequeñas de 2 a 4 cm. Las hojas son largas, sentadas, angostas, enteras y con el borde reflejado hacia atrás, de 8 a 9 mm de largo y unos 2 mm de ancho. Se pueden ubicar como alternas o en grupos de hasta cuatro cercanas a las espinas, en la parte superior se nota una ligera depresión longitudinal que corresponde a una saliente inferior formada por la nervadura central. Las flores son de color rojo azafrañado, solitarias y pequeñas, de unos 2 a 3 mm, cuatro sépalos en el cáliz y cuatro pétalos en la corola mientras que el androceo contiene ocho estambres. Finalmente el fruto es una drupa roja de 6 a 7 mm (Martínez, 1979; Martínez, 1989; Díaz de León, 2005). Este arbusto es originario de América y presenta varias subespecies descritas por Cronquist.

5.2.2 Usos medicinales de la planta. Se reporta el uso medicinal de esta planta para combatir fiebre, diarrea, diurético y contra los parásitos como amebas y lombrices. Se recomienda su empleo en infusión o cocimiento del tronco en trozos los cuales en la infusión se dejan por cinco minutos mientras que en la cocción se usa una cantidad equivalente a 50 g/L de agua que se deja de 30 a 40 minutos hirviendo a fuego normal y posteriormente se retira del fuego, se cuele y se le agrega otro litro de agua para ser usada como agua de tiempo que se deberá tomar en cantidades de 250 ml media hora antes de los alimentos. Otro método que se menciona para el tratamiento de amebas es hervir los trozos del tallo en $\frac{1}{4}$ de litro de agua a modo de infusión y se toma una taza en ayunas durante nueve días (Martínez, 1989; Aguilar *et al.*, 1994 b).

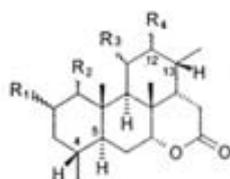
Los estudios fitoquímicos con esta planta han llevado al aislamiento de las sustancias con actividad antiamebica como la gran variedad de compuestos nortriterpénicos denominados cuasinoides (Fig. 12), los cuales se ha probado su actividad antiprotozoaria con *E. histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Toxoplasma gondii* y *Plasmodium falciparum*. De todos ellos solo se demostró que la chaparrina es uno de los compuestos aislados que ha sido probado con éxito en ensayos biodirigidos contra *E. histolytica* tal como lo reporta Calzado-Flores *et al.* (1986 y 2000).

Quasinoídes que han sido aislados de *C. erecta* subsp. *texana*²:



$R_1 = \alpha\text{OH}$	$R_2 = \text{H}$	chaparrina
$R_1 = \alpha\text{OH}$	$R_2 = \text{OH}$	glaucarubol
$R_1 = \text{O}$	$R_2 = \text{OH}$	glaucarubolona
$R_1 = \text{O}$	$R_2 = \text{H}$	chaparrinona
$R_1 = \alpha\text{OH}$	$R_2 = \text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	isovalerianato de glaucarubol
$R_1 = \text{O}$	$R_2 = \text{O-CO-CH}_3$	holacantona

chaparrina 2-O- β -D-glucopiranosido: castelósido A
 glaucarubol 2-O- β -D-glucopiranosido: castelósido B



$R_1 = \text{O}$	$R_2 = \alpha\text{OH}$	$R_3 = \alpha\text{OH}$	$R_4 = \text{O}$	amarólido
$R_1 = \alpha\text{OH}$	$R_2 = \beta\text{OH}$	$R_3 = \text{O}$	$R_4 = \beta\text{OH}$	chaparrólido
$R_1 = \alpha\text{OH}$	$R_2 = \alpha\text{OH}$	$R_3 = \text{O}$	$R_4 = \text{OH}$	12,13-dehído, castelanólido
$R_1 = \text{O}$	$R_2 = \alpha\text{OH}$	$R_3 = \alpha\text{OH}$	$R_4 = \alpha\text{OH}$	chaparramarina
$R_1 = \alpha\text{OH}$	$R_2 = \alpha\text{OH}$	$R_3 = \text{O}$	$R_4 = \beta\text{OH}$	castelalina

$R_1 = \alpha\text{OH}$, $R_2 = \beta\text{OH}$, $R_3 = \text{-O-}\beta\text{-D-glucopiranosido}$, $R_4 = \alpha\text{OH}$, 4,5-dehído castelósido C

$R_1 = \text{O}$, $R_2 = \alpha\text{OH}$, $R_3 = \text{-O-(trans-p-cumarilo)}$, $R_4 = \text{O}$, 11-O-trans-p-cumaroil-amarólido

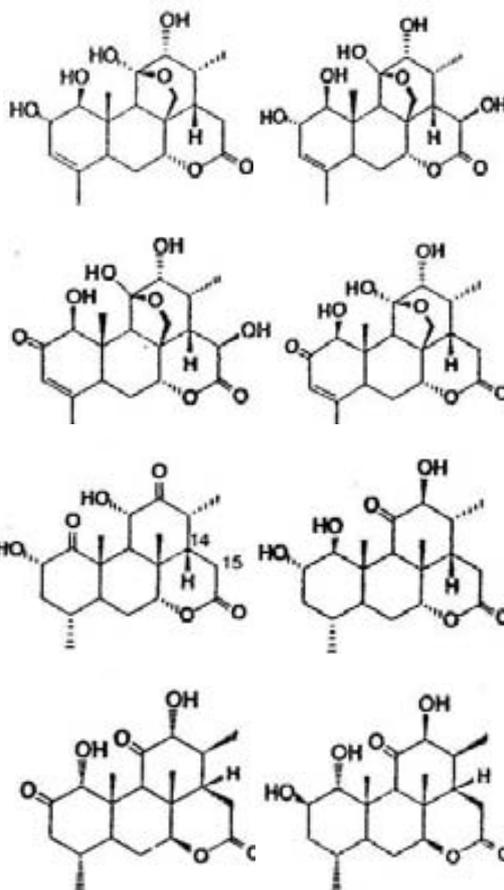
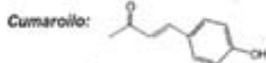


Figura 12. Quasinoídes aislados de *C. erecta texana*. A la izquierda, esqueletos moleculares básicos de estas moléculas y los grupos R que distinguen cada compuesto. A la derecha, las estructuras moleculares de algunos de ellos; A) chaparrina; B) glaucarubol; C) glaucarubolona; D) chaparrinona; E) amarólido; F) chaparrólido; G) chaparramarina; H) castelalina. (Modificado de Díaz de León, 2005).

Los quasinoídes extraídos de *C. erecta texana* son sustancias solubles en diferentes disolventes ya que muchos de los compuestos fueron extraídos del fraccionamiento de la fase metanólica con agua, de acetato de etilo; diclorometano y cloroformo. Así mismo la actividad biológica que presentan se debe a que este grupo de compuestos inhibe la síntesis de proteínas en células eucariotas ya que se unen a un centro peptidil-transferasa en los ribosomas que no están realizando traducción y produce su bloqueo, siendo un proceso irreversible (Díaz de León, 2005).



5.3 *Lepidium virginicum* Linnaeus, 1753 (Brassicaceae)

Esta planta pertenece al género más amplio de la familia Brassicaceae (Cruciferae) que cuenta con unas 150 especies de las cuales nueve se distribuyen en México y de éstas últimas la especie *L. virginicum* (Fig. 13) es una de las que más se utilizan en la medicina popular y está reportado su uso desde la época prehispánica (Barbosa, 2000) por lo que es conocida por una gran cantidad de nombres populares tanto en español como en diferentes lenguas indígenas.

Los nombres en español que se conocen de esta planta en diferentes regiones del país son: Ajonjolillo y pimpinillo (Hidalgo); antijuelillo (San Luis Potosí), chilillo (Puebla), chintá (Querétaro), coclearia del país, cola de zorrillo (no mencionado), comida de pajarito (Jalisco), hierba del pájaro (Zacatecas), cuisique y cupapayo (Guanajuato), lantenilla y panalillo (Michoacán); lentejuela (Nuevo León), lentejilla y lepidio (Distrito Federal, Hidalgo, México, Morelos y Puebla); mastuerzo (Quintana Roo), pata de vieja, pepita, pierna de vieja y verbena (no mencionado) (Martínez, 1979; Martínez 1989; Aguilar *et al.*, 1994 a y b; Barbosa, 2000).

De los anteriores uno de los usados es el de lentejilla; sin embargo, este nombre es utilizado también para nombrar a la planta acuática *Lemna* sp aunque algunos autores como Martínez (1979) indican que el nombre para esta última es lenteja o lentejilla de agua.

Algunos de los nombres indígenas con los que se refiere a esta planta son cuitzikandai, chilacaquilitl, meshishi, mexixquilitl, mixixic y neshishi (náhuatl); chindhá, tzindhá y xixinda (otomí), kabal puut, put-kam, puut xiw, tsakam utsun, utsun tsójol, x-cabalput y xpuut kan (maya), kuitiski y kuitsikindasi (purhé); lentukura y lépajna shla (no mencionada); ye say ee, yo-hi, yuku kue eni y yuku ndk (zapoteco); así como otras denominaciones que probablemente se desconozcan en las demás etnias del país (Díaz, 1976, Martínez, 1979; Martínez, 1989; Aguilar *et al.*, 1994 a y b; Barbosa, 2000).



Figura 13. Ejemplares de *L. virginicum*; A) crecimiento sobre un basamento; B) detalle de las hojas, flores blancas y el fruto tipo lenteja.

5.3.1 Descripción botánica. *Lepidium virginicum* Linnaeus, 1753 es una hierba anual o bienal, generalmente erecta, pero a veces tendiendo a ser rastrera, de 15 a 70 cm de alto, algo pubescente; con un solo tallo saliendo desde la base, o el tallo ramificado desde abajo; hojas basales (generalmente ausentes en ejemplares en fruto) de 5 a 15 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho, pinnatífidas o bipinnatífidas, hojas caulinas más pequeñas, a veces pinnatífidas o lobadas, más comúnmente asociadas y en ocasiones enteras, flores sobre pedicelos de 1 a 3 veces más largos que el fruto; sépalos de 1 mm de largo, pétalos generalmente del tamaño de los sépalos o más grandes que estos, rara vez ausentes o más cortos que los sépalos; estambres dos (a veces cuatro ó seis); silicuas de 3 a 4mm de largo, ovales o casi orbiculares, glabras, marginadas, con una escotadura apical y en cuya base el estigma sésil. Es una especie originaria de América con mayor distribución en Estados Unidos y México, sin embargo, también alcanza varias regiones de Sudamérica. Se le considera como una maleza muy frecuente que crece a la orilla de las banquetas, terrenos baldíos, senderos y terrenos de cultivo presente a una altitud desde 2 250 hasta 3 000 msnm (Rzedowski y Rzedowski, 2005).



5.3.2 Usos medicinales de la planta. En la literatura etnobotánica se cita su uso contra el catarro, desinflamación y dolor de estomago; escorbuto, nervios, cólicos, para apretar encías, cerrar heridas, como diurético, para lavados estomacales y los desordenes gastrointestinales como el estreñimiento, la enteritis, y la disentería siendo esta última especificada como la causada por lombrices y amebas (Martínez, 1989; Aguilar *et al.*, 1994b; Barbosa, 2000).

Para la disentería se recomienda utilizar las hojas, flores y tallos en infusión, la cual se prepara con dos o tres ramitas y se deja de tres a cinco minutos hasta que suelte color; algunas veces se recomienda agregar leche y cáscara de plátano molido. También se puede preparar con dos o tres ramas en un litro de agua que se dejan en infusión en la misma forma pero a ésta no se le agregan nada y se toma como agua de día cuando se padece diarrea. Si la disentería es fuerte se debe combinar con agua donde se coció una planta y el fruto del membrillo. Por último para aliviar el dolor de estomago se puede prepara un vaso de infusión con medio litro de agua y una rama de lentejilla a la cual se le puede agregar dos hojas de chirimoya y dos de guayaba. (Martínez, 1989; Aguilar *et al.*, 1994 b).

Esta especie ha sido poco estudiada desde el punto de vista fitoquímico pero ya se ha aislado un compuesto con actividad antiprotozoaria y el cual se caracterizó como un glucosinolato (glucotropeolina) de fórmula estructural $C_{14}H_{18}O_9NS_2Na$ (Fig. 14). En ensayos biodirigidos resultó ser eficaz contra *E. histolytica*; sin embargo, aún se desconoce como es que actúa a nivel celular (Barbosa, 2000).

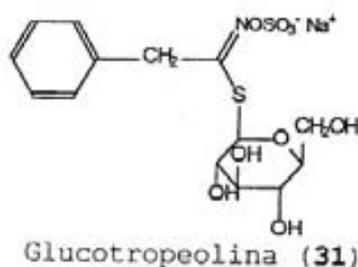


Figura 14. Estructura molecular de la glucotropeolina (Tomado de: Barbosa, 2000)



CAPÍTULO

6

Justificación y Objetivos.

VI. Justificación y objetivos

6.1 Justificación

Dada la importancia que tiene la entamoebosis en México y el mundo, así como las secuelas que trae la medicación con los fármacos convencionales como el metronidazol es importante realizar investigaciones que busquen proporcionar alternativas para el combate de la enfermedad.

A su vez es importante resaltar que en nuestro país se cuenta con una gran riqueza y tradición en el uso de plantas medicinales las cuales se han utilizado desde la época precolombina y muchas de estas plantas ofrecen un potencial farmacológico que sin duda puede dar alternativas al combate de esta enfermedad, tal como se ha venido encontrando en los trabajos antes realizados. Con estas investigaciones se valida el uso que se les da a las mismas plantas en el combate de la enfermedad; conocimiento que poseen las personas y que había sido descubierto y comprobado por ellos desde mucho antes.

6.2 Objetivo general

Evaluar el potencial antiaméptico *in vitro* que presentan los extractos de tres plantas que han sido muy utilizadas en la medicina tradicional mexicana: el epazote (*Chenopodium ambrosioides*), el chaparro amargoso (*Castela erecta texana*) y la lentejilla de tierra (*Lepidium virginicum*) en el combate de la entamoebosis.

6.3 Objetivos particulares

- ✓ Evaluar el efecto antiaméptico *in vitro* de los extractos acuoso, hexánico, diclorometánico y metanólico de *Chenopodium ambrosioides*.
- ✓ Evaluar el efecto antiaméptico *in vitro* de los extractos acuoso, hexánico, diclorometánico y metanólico de *Castela erecta texana*.
- ✓ Evaluar el efecto antiaméptico *in vitro* de los extractos acuoso, hexánico, diclorometánico y metanólico de *Lepidium virginicum*.

CAPÍTULO

7

Material y Métodos.

VII. Material y métodos

7.1 Sitio de colecta

Los ejemplares de *Lepidium virginicum* y *Chenopodium ambrosioides* fueron colectados durante el mes de agosto del 2006 a las orillas de un terreno propiedad del Gobierno del Distrito Federal que colinda con el estacionamiento de los campos de baseball de la Liga Mexica A. C.; una de las salidas del 15vo. Batallón Militar de la Armada de México y la salida al Periférico de la calle Canal Potrero en la delegación Xochimilco, México, Distrito Federal (Fig. 15). El terreno se encuentra a 2 235 msnm y las coordenadas obtenidas con geoposicionador (GPS 12) lo ubican en la latitud 19° 17' 30.5''N y longitud 99° 06' 20.3''O.

El ejemplar de *C. erecta texana* fue comprado en el Mercado de Sonora de la Ciudad de México debido a que esta planta se distribuye en zonas áridas del norte del país.

Todos los especímenes vegetales fueron identificados con ayuda de las claves y descripciones señaladas en la literatura especializada (Rzedowski y Rzedowski, 2002; Díaz de León, 2005).



Figura 15. Sitio donde se recolectaron los ejemplares de *C. ambrosioides* y *L. virginicum*, Xochimilco, México, D.F. A) Vista de la calle Canal Potrero desde un puente peatonal; B) mapa de ubicación del lugar de recolecta disponible en www.guiaroji.com.mx. El círculo morado delimita el sitio de recolecta.

7.2 Preparación de los extractos

Las tres plantas se pusieron a secar a temperatura ambiente sin luz directa y en lugar ventilado; posteriormente fueron molidas hasta obtener un polvo semifino del que se tomaron 40 g para preparar cada extracto.

7.2.1 Extracto acuoso. El extracto acuoso se preparó hirviendo 500 ml de agua destilada por 10 minutos, después se disminuyó la intensidad de la flama y se agregó el polvo de la planta, la cual se dejó hervir tres minutos más. Posteriormente se filtro al vacío con ayuda de un embudo y un matraz Kitasato usando algodón para separar los residuos de planta.

Se vaciaron 500 ml aproximadamente de infusión filtrada en cinco matraces de bola (100 ml por matraz) y se congelaron en hielo seco y acetona. El sólido obtenido se llevó a un liofilizador (LABCON) con el cual se obtuvo un polvo que contenía la masa de compuestos que se disolvieron en agua. Toda esa masa de polvo se vació en un mortero y se trituró para obtener un residuo más fino al cual se le midió la masa en una balanza analítica (SCIENTECH SA120), se calculó el rendimiento y finalmente se guardó en frascos de vidrio con tapa hermética rotulados con el nombre de cada planta. Este polvo constituyó el extracto acuoso que se utilizó en los ensayos biológicos más adelante.

7.2.2 Extractos orgánicos. Se prepararon tres extractos orgánicos por cada planta usando un disolvente de diferente polaridad. Los disolventes utilizados (ALDRICH) fueron hexano, diclorometano y metanol para separar compuestos de baja, mediana y mayor polaridad respectivamente.

La extracción orgánica se llevó a cabo utilizando un equipo Soxhlet (Fig. 16) en el que se colocó la planta molida en un cartucho de papel filtro y se realizó la extracción por ocho horas tres veces para obtener la mayor cantidad de compuestos con cada disolvente. Cada fracción fue recolectada en frascos de vidrio con tapa hermética los cuales se cubrieron con papel aluminio y se rotularon con el nombre de la fracción y planta correspondientes. Posteriormente se eliminó la mayor parte de disolvente de cada fracción con ayuda de un

rotavapor (BÜCHI B490) conectado a una bomba de vacío (VACUUBRAND CVC2); ambos aparatos se aprecian en la Fig. 17. El resto se vació a frascos limpios de vidrio previamente pesados en una balanza analítica (SCIENTECH SA120) y rotulado con el nombre de la planta y extracto correspondiente, así como el peso del frasco. A éstos se les hizo una tapa con papel aluminio con pequeñas perforaciones para permitir la evaporación del disolvente restante con ayuda de una campana de flujo laminar (LABCON). Finalmente se midió la masa obtenida con ayuda de la misma balanza analítica en cada frasco y se calculó el rendimiento. De esta forma se obtuvieron las fracciones orgánicas de hexano, diclorometano y metanol que se utilizaron en los ensayos biológicos.

7.3 Cepas de *Entamoeba histolytica*

Para las pruebas biológicas se utilizó la cepa ***Entamoeba histolytica* HM1 – IMSS** la cual fue adquirida y trabajada en el Laboratorio de Patología Experimental de la Facultad de Medicina. Los cultivos se realizaron con medio TYI-S-33 (Diamond y Bartgis, 1971) (Anexo D) y se utilizaron durante su fase logarítmica de crecimiento como se ha reportado en numerosos trabajos (Calzado-Flores *et al.*, 1986; Calzada *et al.*, 1998; Alanis, 2000; Barbosa, 2000; Calzada, 2000; Calzado-Flores *et al.*, 2000; Arrieta *et al.*, 2001; Alanis *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2005; Said, *et al.*, 2005; Calzada *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2007; Moo-Puc *et al.*, 2007).

Cada cultivo se puso en hielo por cinco minutos para despegar los trofozoítos de las paredes del frasco y después fue vaciado bajo campana de flujo laminar (LABCON) en tubos *Eagle* de 50 ml para ser centrifugados a 1000 rpm durante cinco minutos en una centrifuga (LABCON). Se quitó el sobrenadante y el botón fue resuspendido, de éste se tomaron 50µL y se agregaron a un tubo *Eppendorff* con 450 µl de solución PBS-A (Anexo E) y se mezcló homogéneamente. De aquí se tomaron 50 µl y se mezclaron en otro tubo *Eppendorff* con 50 µl de azul de Tripano (SIGMA) y posteriormente se contaron los trofozoítos para determinar la concentración en el cultivo con ayuda de una cámara de Neubauer (ALDRICH).



Figura 16. Equipo Soxhlet utilizado para realizar las extracciones orgánicas. Taller de Plantas, edificio Tlahuizcalpan, Facultad de Ciencias, UNAM. Foto cortesía de Aldebarán Camacho-Velázquez.



Figura 17. Rotavapor (izquierda) y bomba de vacío (derecha) utilizados para separar los disolventes orgánicos. Laboratorio de Prácticas de Química Orgánica, edificio Tlahuizcalpan, Facultad de Ciencias, UNAM.



7.4 *Ensayos biológicos*

Para las pruebas biológicas se modificó parte de la metodología empleada en numerosos trabajos (Calzado-Flores *et al.*, 1986; Calzada *et al.*, 1998; Alanis, 2000; Barbosa, 2000; Calzada, 2000; Calzado-Flores *et al.*, 2000; Arrieta *et al.*, 2001; Alanis *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2005; Said, *et al.*, 2005; Calzada *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2007; Moo-Puc *et al.*, 2007) con las siguientes especificaciones:

Se tomaron 100 mg de extracto acuoso y se disolvió en 10 ml de medio TYI-S-33 fresco y se mezcló hasta obtener una solución homogénea, la cual se aforó hasta 20 ml con medio de cultivo. En el caso de los extractos orgánicos los 100 mg se disolvieron previamente en 1 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) de la marca SIGMA y posteriormente se aforaron con 19 ml del medio de cultivo. Todos los extractos fueron esterilizados con filtros de membrana desechables de poliuretano (MILIPORE) con poro de 0.22 μm .

En tubos de vidrio (PYREX) con tapón de rosca previamente esterilizados se agregaron 40, 80 y 120 μl de las soluciones anteriores y se aforaron con 4 ml de medio de cultivo para obtener concentraciones de 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Cada prueba fue inoculada con los protozoos a una concentración 2.5×10^5 trofozoítos/ml y se incubaron a 37 °C por 72 hrs.

Todas las pruebas incluyeron un blanco (trofozoítos + medio) y en el caso de las pruebas con extractos orgánicos se incluyó también un control (DMSO + trofozoítos + medio).

Para contar los trofozoítos, cada tubo se colocó en hielo por cinco minutos, se tomaron 50 μl y se agregaron a un tubo *Eppendorff* con 50 μl de azul de Tripiano y de éste se tomó una gota para su conteo con cámara de Neubauer considerando únicamente los trofozoítos viables (sobrevivientes). Cada prueba se hizo por duplicado y se repitió tres veces. La población promedio del cultivo blanco de cada tratamiento fue considerada como el 100 % y por regla de tres se obtuvo el porcentaje de sobrevivencia de las concentraciones de cada extracto según la población promedio contada (Fig. 19 - 22). El método general seguido se muestra en la Fig. 15.

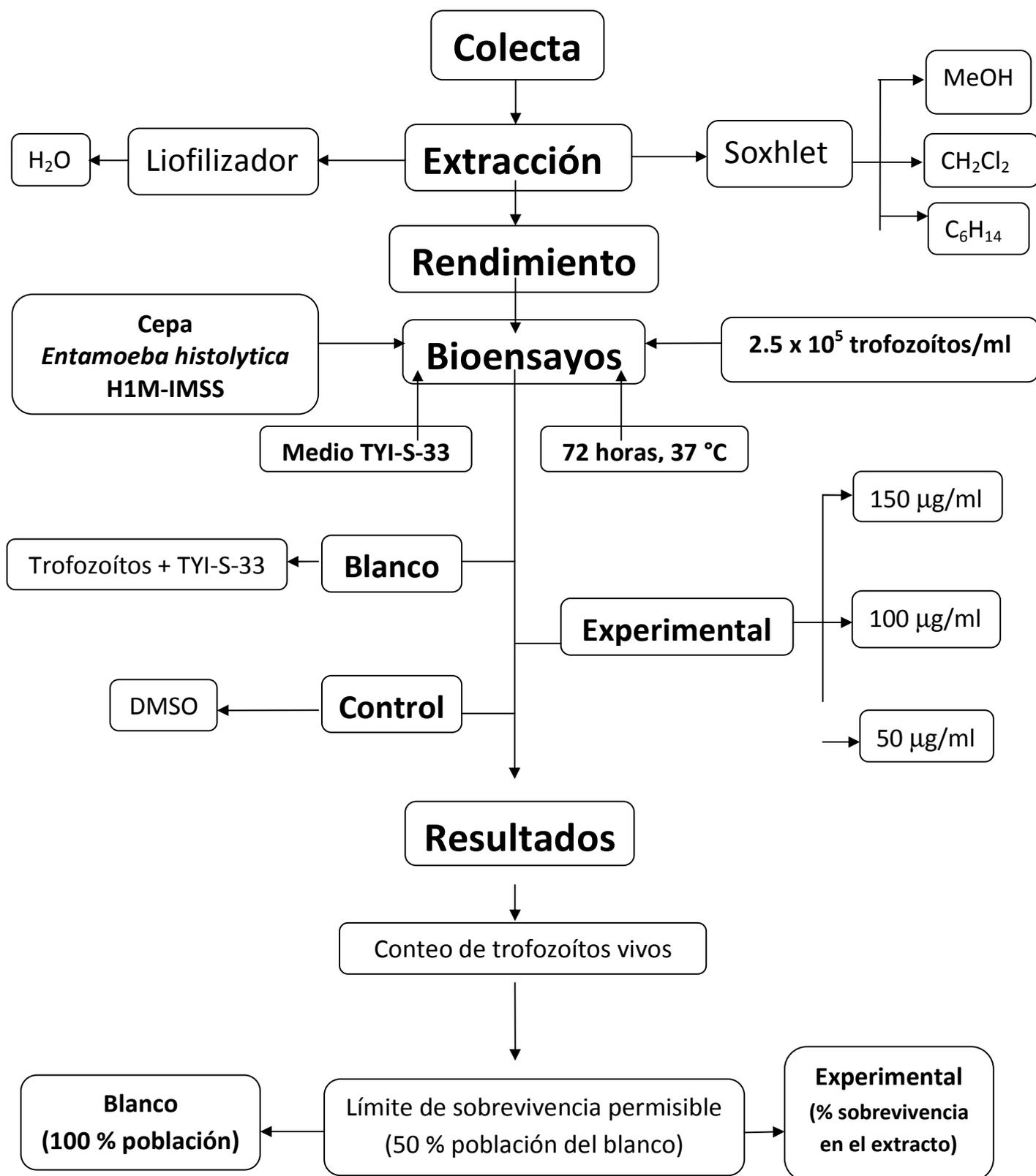


Figura 18. Diagrama de flujo que muestra la metodología seguida en esta disertación.

7.5 Modelo estadístico

Para los bioensayos se planteó un modelo factorial 3x4x3 completamente aleatorizado con tres criterios de clasificación, con interacción. Los factores probados fueron los siguientes:

- a) Plantas estudiadas, con tres niveles de tratamiento: Las tres especies estudiadas son:
- b) Extracto con cuatro niveles de tratamiento: hexano, diclorometano, metanol y acuoso.
- c) Dosis de cada extracto con tres niveles de tratamiento: 150, 100 y 50 µg/ml.

El modelo empleado es el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + (abc)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

en donde:

Y_{ijkl} = Representa el número de individuos (trofozoítos) sobrevivientes en la unidad experimental l-ésima, sometida a los tratamientos: a_i , b_j y c_k

μ = Representa la media general de la población que contiene los tratamientos.

a_i = Representa el efecto del tratamiento a (especie evaluada) sobre la variable de respuesta (sobrevivencia)

b_j = Representa el efecto del tratamiento b (extractos evaluados) sobre la variable de respuesta (sobrevivencia).

c_k = Representa el efecto de la dosis de cada extracto sobre la variable de respuesta (sobrevivencia).

$(abc)_{ijk}$ = Representa el posible efecto de interacción de los tres tratamientos: a_i , b_j y c_k sobre la variable de respuesta (sobrevivencia).

ε_{ijkl} = Representa el error aleatorio ocasionado por todos los factores no constantes o no controlados en cada uno de los tratamientos estudiados. Se considera de distribución normal, con media cero y varianza σ^2 (Méndez, 1976).

7.6 Análisis e interpretación de la información

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza con un nivel de probabilidad $\alpha = 0.05$, utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS versión 5.0.

Después de realizar los análisis, se tuvieron dos alternativas:

- a) El caso donde no se rechazó la hipótesis nula (H_0), es decir, que no se encontraron diferencias significativas, entre los tratamientos al nivel de significancia usado. Esto implica que la variabilidad entre los extractos estudiados es del mismo orden de magnitud que las de los errores y por esto se considera que las medias de los tratamientos (como poblaciones) son iguales.
- b) El caso donde se rechaza H_0 , es decir, se considera que hay diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. En este caso, se aplicaron pruebas de rango múltiple de intervalos de confianza a un nivel de probabilidad $\alpha = 0.05$ (Tuckey), para distinguir los niveles que causan diferencia.

CAPÍTULO

8

Resultados y

Discusión.

VIII. Resultados y discusión

8.1 Resultados.

8.1.1 Rendimiento de los extractos. El rendimiento de los diferentes extractos obtenidos se muestra en el cuadro 3. El mayor rendimiento se obtuvo en el extracto acuoso de las tres especies estudiadas, cercano al del metanol y significativamente mayor que los disolventes diclorometano y hexano, disolvente menos polar que mostraron menor rendimiento. *Chenopodium ambrosioides* fue la especie con la que se obtuvo los mayores rendimientos, seguida de *Lepidium virginicum* y *Castela erecta texana*.

8.1.2 Evaluación del efecto letal de los extractos. Se realizó análisis de varianza global considerando los resultados de las tres especies evaluadas, encontrándose diferencias significativas entre éstas ($F = 3.39$, $P = 0.033933$) (Anexo F, cuadro F1). Así mismo el control que se empleó para los extractos orgánicos no presentó diferencias significativas con respecto al blanco (Anexo F, cuadros F5, F9 y F13).

Cuadro 3: Rendimiento obtenidos de los diferentes extracciones para cada planta. Los solventes van de menor a mayor polaridad.

	<i>C. erecta texana</i>		<i>L. virginicum</i>		<i>C. ambrosioides</i>	
	Peso seco (g)	(% rendimiento)	Peso seco (g)	(% rendimiento)	Peso seco (g)	(% rendimiento)
C ₆ H ₁₄	0.889	(01.11)	0.956	(02.39)	0.901	(02.25)
CH ₂ Cl ₂	0.827	(01.03)	0.959	(02.40)	1.350	(03.37)
MeOH	2.620	(03.33)	4.260	(10.66)	5.110	(12.92)
H ₂ O	5.770	(13.84)	5.970	(14.92)	7.140	(17.85)

8.1.2.1 Extracto acuoso. Las pruebas *in vitro* del extracto de *C. ambrosioides* mostraron actividad amebicida con significancia de $F = 8.88$, $P = 0.000010$ (Anexo F, cuadro F2 y F3). La sobrevivencia de los trofozoítos fue del $40.96 (\pm 2.62)$, $50.90 (\pm 3.03)$ y $63.98 (\pm 2.21)$ % en concentraciones de 150, 100 y 50 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Por su parte el extracto de *L. virginicum* mostró una significancia de $F = 6.38$, $P = 0.000302$ (Anexo F, cuadro F6 y F7) y la sobrevivencia observada fue del $24.59 (\pm 3.83)$, $44.70 (\pm 3.18)$ y $64.65 (\pm 3.63)$ % para las concentraciones antes mencionadas. Finalmente el extracto de *C. erecta texana* tuvo una significancia de $F = 3.96$, $P = 0.008213$ (Anexo F, cuadro F10 y F11) y la sobrevivencia de trofozoítos fue del $45.80 (\pm 4.40)$, $64.69 (\pm 4.09)$ y $93.21 (\pm 4.25)$ %. Los resultados de las tres plantas se aprecian en la Fig. 19.

8.1.2.2 Extracto metanólico. Para las pruebas que se realizaron con el extracto de *L. virginicum* se observó que éste presenta actividad significativa (Anexo F, cuadro F6 y F7), la sobrevivencia de los trofozoítos fue del $50.25 (\pm 2.39\%)$, $56.48 (\pm 2.59)$ y $67.52 (\pm 2.47)$ % a concentraciones de 150, 100 y 50 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. El extracto de *C. erecta texana* presentó actividad significativa (Anexo F, cuadros F10 y F11) y se observó que la supervivencia fue del $8.40 (\pm 1.91)$, $26.91 (\pm 2.86)$ y $50.17 (\pm 3.08)$ %. Por otro lado el extracto de *C. ambrosioides* también presentó actividad significativa (Anexo F, cuadros F2 y F3), se observó que la sobrevivencia de trofozoítos fue del $7.01 (\pm 2.54)$, $21.53 (\pm 3.04)$ y $50.33 (\pm 3.08)$ %. Los resultados se observan en la Fig. 20.

8.1.2.3 Extracto de diclorometano. Los extractos de las tres plantas mostraron diferencias significativas en su actividad amebicida (Anexo F, cuadros F2, F3, F6, F7, F10 y F11). La sobrevivencia de trofozoítos para *C. ambrosioides* fue de $13.22 (\pm 2.06)$, $25.80 (\pm 1.44)$ y $46.35 (\pm 1.97)$ % en concentraciones de 150, 100 y 50 $\mu\text{g/ml}$, mientras que para *C. erecta texana* fue del $36.22 (\pm 1.60)$, $45.85 (\pm 1.55)$ y $61.05 (\pm 1.80)$ %. La sobrevivencia en el extracto de *L. virginicum* fue del $38.75 (\pm 1.94)$, $46.15 (\pm 1.66)$ y $58.17 (\pm 2.45)$ % en las concentraciones mencionadas. Todos los resultados de la evaluación de este extracto se observan en la Fig. 21.

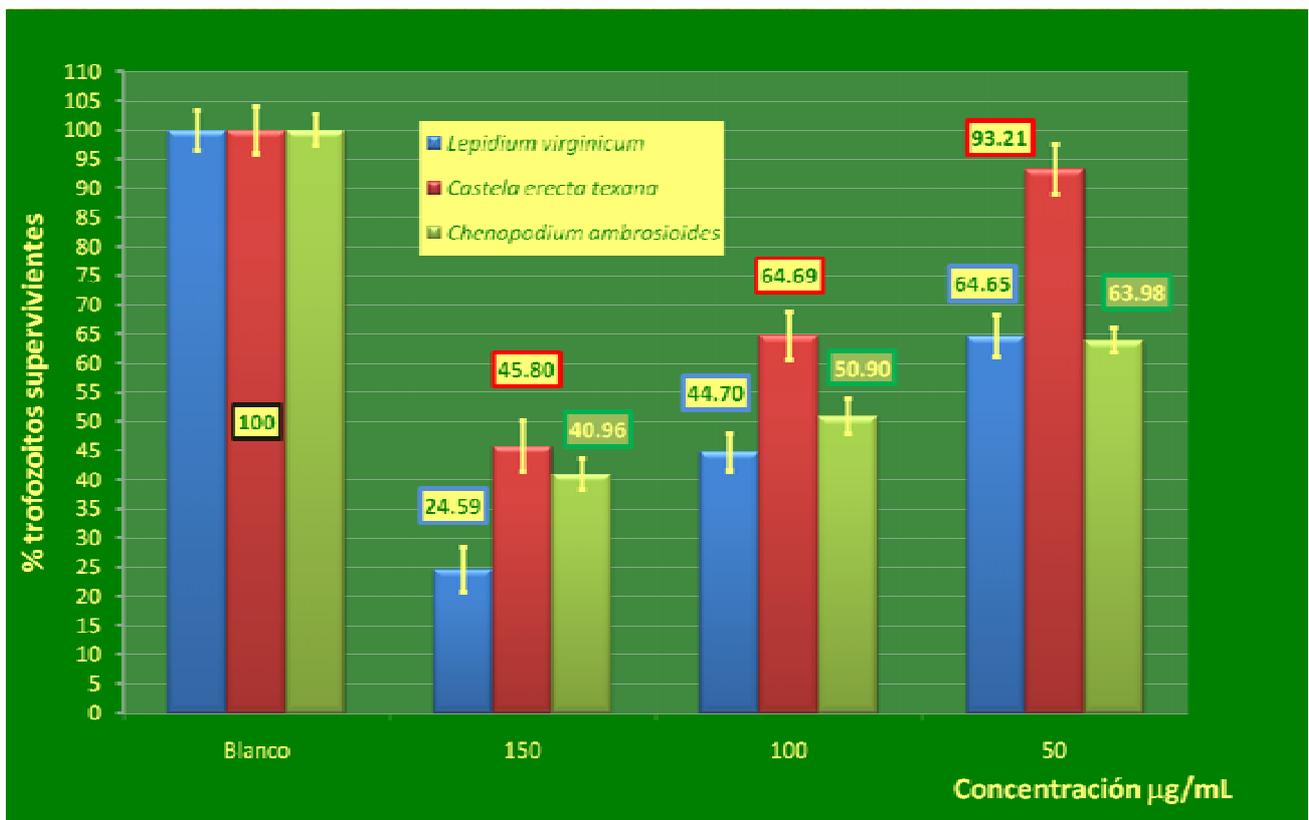


Figura 19. Efecto de los extractos acuosos (H₂O) de las tres plantas sobre *E. histolytica*

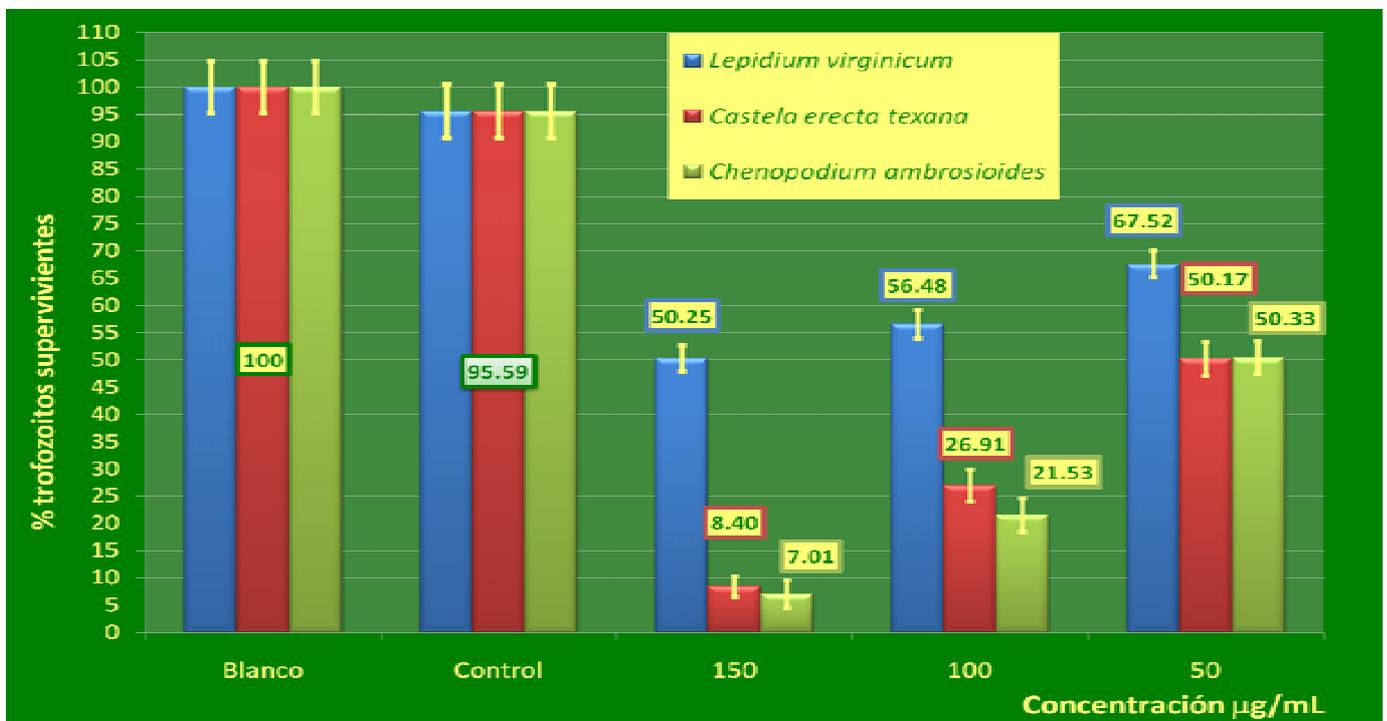


Figura 20. Efecto de los extractos metanólico (MeOH) de las tres plantas sobre *E. histolytica*.

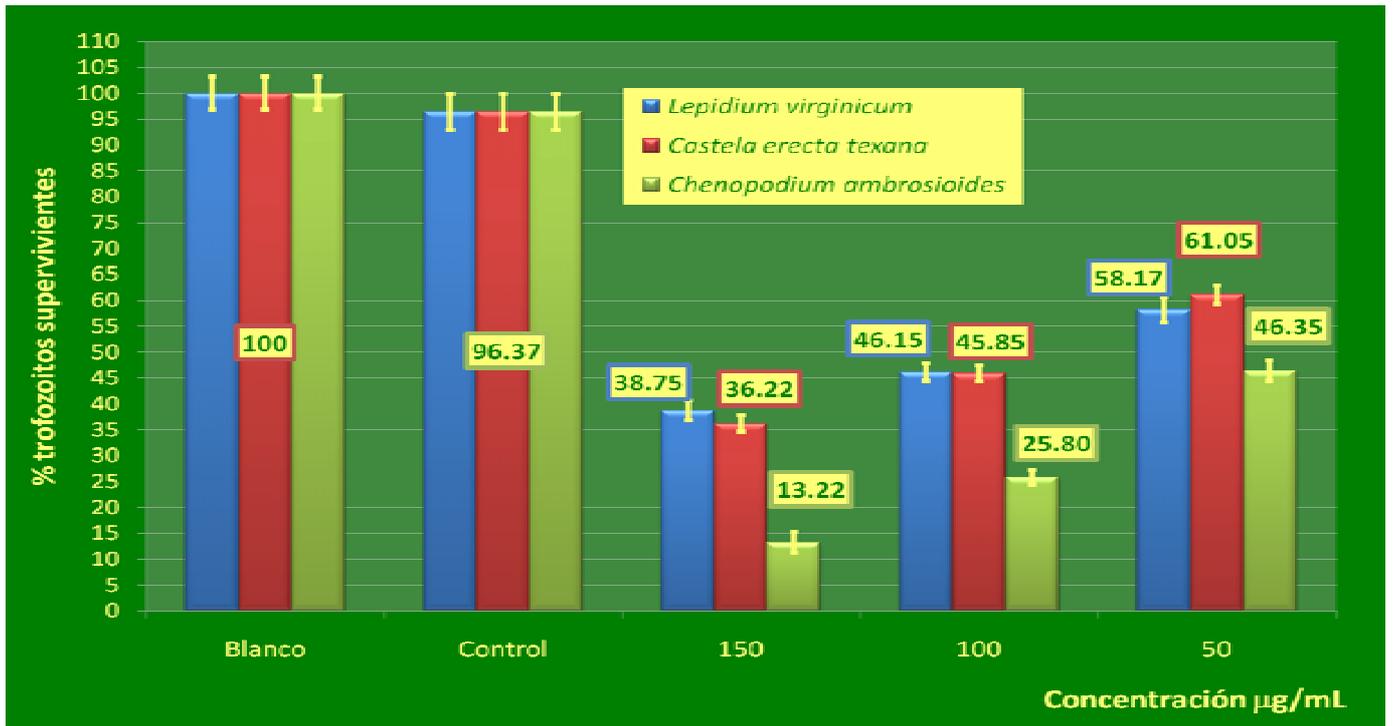


Figura 21: Efecto de los extractos diclorometánicos (CH₂Cl₂) de las tres plantas sobre *E. histolytica*.

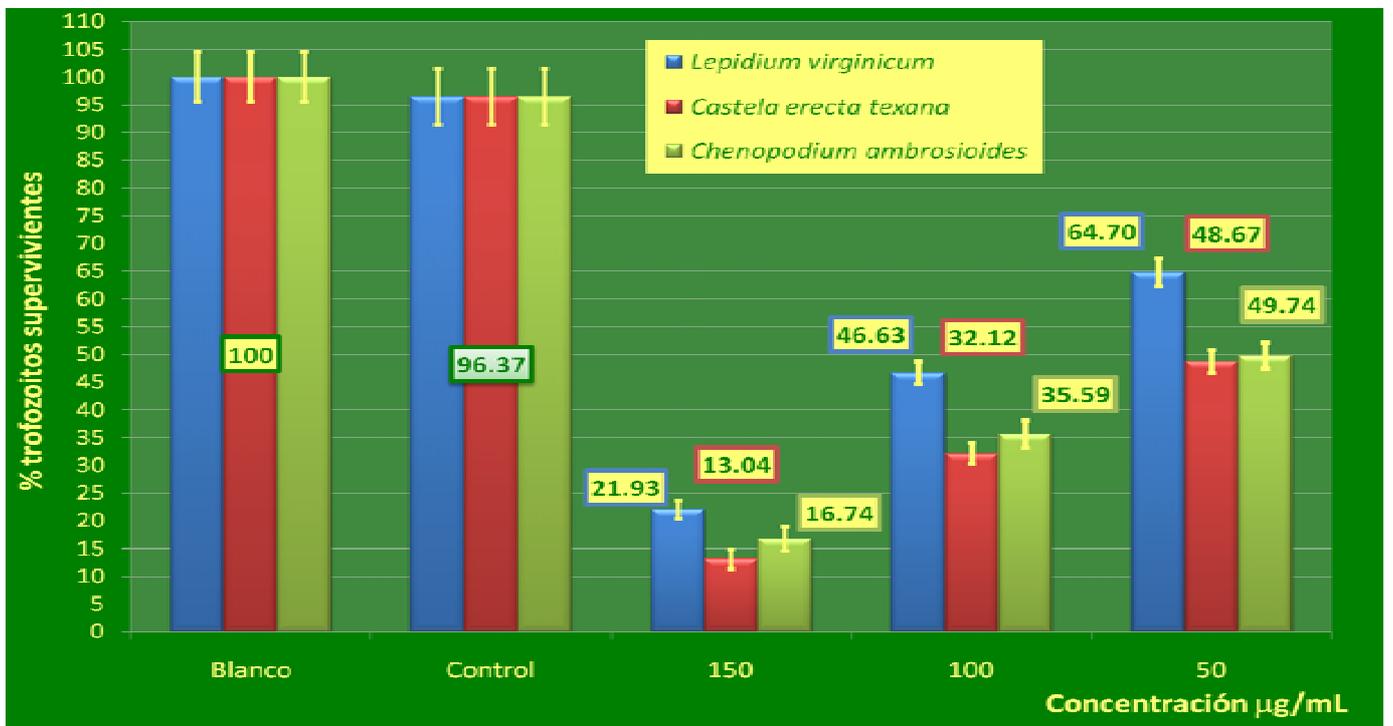


Figura 22: Efecto de los extractos hexánicos (C₆H₁₄) de las tres plantas sobre *E. histolytica*.

8.1.2.4 Extracto hexánico. La actividad antiamebica que se observó en esta fracción nos muestra que los extractos de las tres plantas presentan diferencias significativas (Anexo F, cuadros F2, F3, F6, F7, F10 y F11). Los porcentajes de sobrevivencia a las concentraciones de 150, 100 y 50 $\mu\text{g/ml}$ fueron los siguientes: En el extracto de *C. erecta texana* se observó sobrevivencia del 13.04 (± 1.75), 32.12 (± 1.92) y 48.67 (± 2.12) % respectivamente, mientras que en *C. ambrosioides* fue del 16.74 (± 2.26), 35.59 (± 2.45) y 49.74 (± 2.35) %. En *L. virginicum* los trofozoítos sobrevivientes fueron del 21.93 (± 1.70), 46.63 (± 2.03) y 64.70 (± 2.49) % en las concentraciones antes mencionadas. Los resultados descritos para las tres especies en esta fracción se pueden comparar en la Fig. 22.

8.2 Discusión

Los resultados obtenidos de los extractos de la fracción acuosa mostraron que *C. ambrosioides* y *L. virginicum* presentaron una actividad amebicida considerable en las tres concentraciones probadas siendo mayor para *C. ambrosioides* en 150 $\mu\text{g/ml}$ donde se observó que la sobrevivencia de los trofozoítos fue del 24.59 %, la más baja para esta fracción. Por su parte *L. virginicum* mostró una actividad similar a *C. ambrosioides* en los 100 y 50 $\mu\text{g/ml}$, concentraciones en las que la actividad amebicida alcanzó y rebasó el límite permisible de sobrevivencia (50 % de la población blanco). Por lo tanto, los extractos acuosos de ambas especies se consideran efectivos desde 100 $\mu\text{g/ml}$. Por otro lado, *C. erecta texana* resultó ser la especie cuyo extracto acuoso presentó la actividad amebicida más baja de la fracción siendo apenas efectivo desde 150 $\mu\text{g/ml}$, donde la sobrevivencia fue del 45.80 (± 4.40) % y teniendo una actividad casi nula a los 50 $\mu\text{g/ml}$ donde la sobrevivencia fue del 93.21 (± 4.25) % (Fig. 19).

En cuanto a la fracción metanólica (Fig. 20) se observó que *C. ambrosioides* y *C. erecta texana* mostraron tener el mismo efecto amebicida en las tres concentraciones ensayadas. La efectividad de los compuestos del extracto metanólico de ambas especies se mantuvo dentro del límite permisible hasta los 50 $\mu\text{g/ml}$ donde la supervivencia de trofozoítos alcanzó el 50.33 (± 3.03) % para *C. ambrosioides* y 50.17 (± 3.17) % para *C. erecta texana*. Sin embargo, cabe señalar que ambas especies vegetales tuvieron su

actividad más importante en 150 µg/mL, concentración en la que la sobrevivencia de trofozoítos fue apenas del 7.01 (± 2.54) y 8.40 (± 1.91) % respectivamente. En contraste el extracto con *L. virginicum* presentó poca actividad amebicida teniendo sobrevivencia del 50.25 (± 2.39) % a partir de los 150 µg/ml (Fig. 20).

Las fracciones de diclorometano y hexano mostraron resultados muy interesantes ya que se observó la actividad amebicida más importante para las tres especies vegetales aunque destacó *C. ambrosioides* que fue la especie que tuvo la actividad amebicida más alta y claramente por debajo del límite permisible de sobrevivencia de trofozoítos hasta la concentración de 50 µg/ml (Figs. 21 y 22). Tanto *C. erecta texana* como *L. virginicum* tuvieron la misma actividad amebicida en la fracción de diclorometano, la cual fue menor a la exhibida por *C. ambrosioides* (Fig. 21). En cambio, en la fracción hexánica se observó que *L. virginicum* mostró una actividad amebicida ligeramente menor a la que mostraron *C. erecta texana* y *C. ambrosioides*. Estas últimas dos especies mostraron la misma actividad en todas las concentraciones ensayadas en la fracción (Fig. 22).

Los resultados observados en las cuatro fracciones mostraron que todos los extractos de *C. ambrosioides* presentaron la mejor actividad contra *E. histolytica* desde 50 µg/ml en los tres extractos orgánicos y desde 100 µg/ml en el acuoso (Figs. 19-22). Los tratamientos en esta especie vegetal mostraron tener significancia de $F = 1145.863$, $P = 0.000010$ (Anexo F, cuadros F4 y F5). De esta forma la actividad antiamebica reportada para los extractos de *C. ambrosioides* fue mejor a la reportada en los estudios previos de Calzada *et al* (2006). Cabe señalar que estos autores trabajaron con las dos variedades de color de esta planta reportando una sobrevivencia del 50% de los trofozoítos en una concentración de 112.6µg/ml en el extracto metanólico para la variedad verde, misma que se utilizó en este estudio encontrándose que una concentración de 100 µg/ml sobrevivían solo el 21.53 (± 3.04) % de los trofozoítos. En una concentración de 50 µg/ml se observó una sobrevivencia del 50.33 (± 3.08) % lo cual demuestra una mejor actividad contra el parásito (Fig. 20).

Estas diferencias que presentaron tanto *C. ambrosioides* como *L. virginicum* plantean a una serie de cuestionamientos sobre los factores que influyeron en la discrepancia entre lo reportado en la literatura y esta disertación. Por un lado las diferencias se pueden deber a la calidad de los suelos y/o algún otro factor ambiental donde crecían las plantas tanto en los trabajos previos como en el que se reporta en esta disertación. Esta idea esta fundamentada en el trabajo de Osuna *et al.* (2006) que reporta diferencias en la producción de metabolitos secundarios entre las plantas recolectadas *in situ* de especies silvestres y domesticadas de diferentes regiones, así como con aquellas que fueron cultivadas *in vitro*.

Las plantas recolectas en otros trabajos fueron obtenidas en mercados y diferentes sitios de la República Mexicana para su estudio. Por ejemplo, en la tesis doctoral de Calzada (2000) se menciona que las plantas estudiadas, entre ellas *L. virginicum* fueron colectadas en diferentes sitios del país. Por su parte Barbosa (2000) menciona que su colecta se llevó a cabo en la delegación Tláhuac del Distrito Federal, durante el mes de noviembre. En cuanto a *C. ambrosioides*, el trabajo previo de Calzada *et al.* (2006) indica que fue colectada junto a otras plantas en mercados locales de diferentes estados de la República Mexicana entre los que figuran el Distrito Federal, México, Hidalgo, Guanajuato, Sinaloa y Yucatán.

Es importante mencionar que la calidad de suelos donde se colectaron las plantas en trabajos previos deben ser diferentes en cuanto a condiciones como pH, humedad, radiación lumínica, la disponibilidad de fósforo y nitrógeno, entre otros factores externos como son la presencia de contaminantes, la actividad antropogénica y las interacciones bióticas del sitio de colecta, así como la época de colecta (Osuna *et al.*, 2006).

Las diferencias en cuanto a las condiciones donde fueron recolectada las plantas constituyen un tema interesante porque a pesar de tratarse de las mismas especies los resultados fueron diferentes y esto indica que es importante abordar estudios del suelo en sitios donde se colectan especies para estos trabajos, porque es posible que bajo ciertas condiciones se favorezca una producción mayor de metabolitos secundarios, que en este caso sean los responsables de la actividad antiamebica. Precisamente autores

como Osuna *et al.* (2006) señalan que es importante encontrar las condiciones óptimas para obtener la mayor producción de metabolitos de las especies vegetales de los que ya se ha probado su eficacia contra algún desorden.

Los tratamientos con extractos metanólicos de *C. erecta texana* tuvieron significancia de $F = 212.054$, $P = 0.000010$ (Anexo F, cuadros F12 y F13) y su actividad antiamébrica fue similar a los resultados reportados en la literatura. Por su parte, los tratamientos con extractos de *L. virginicum* en las diferentes concentraciones ensayadas mostraron tener una significancia de $F = 958.187$, $P = 0.000010$ (Anexo F, cuadros F8 y F9), sin embargo, su actividad amebicida fue menor a lo que se había reportado previamente por Calzada (2000).

Otro aspecto importante que se debe señalar es en cuanto a la interacción y la polaridad de los compuestos conocidos de las plantas los cuales pueden tener actividad desparasitante ya sea como antihelmínticos o antiprotozoarios.

Chenopodium ambrosioides resultó ser la planta cuyos extractos presentaron la mejor actividad contra *E. histolytica* lo cual apoya su uso como un buen desparasitante; sin embargo, es posible que la sustancia responsable de esta actividad es el ascaridol pues resulta ser un compuesto que se extrae fácilmente con arrastre de vapor, además existen estudios reportan su estabilidad molecular en el extracto acuoso hasta los 100 °C. (Rimada *et al.*, 2006).

Recientemente se ha encontrado que esta sustancia es mutagénica ya que interactúa con ácidos nucleicos de manera similar al metronidazol, esto es, uniéndose a las bases del ADN según se ha descrito de forma experimental en sistemas a corto plazo *in vitro* (Ames), aunque cabe señalar que los mismos experimentos descritos para modelos *in vivo* han resultado negativos. Estos reportes sugieren que es posible que exista un mecanismo que neutralice la genotoxicidad de la molécula en los sistemas *in vivo* (Vizoso *et al.*, 2000).

. Por otro lado, los resultados que mostraron la efectividad de los extractos de *C. ambrosioides* que se reportan en la presente disertación se deben a la actividad genotóxica del ascaridol, suponiendo que se trate de la molécula responsable del efecto

antiaméxico. De esta forma el mecanismo de interacción del ascaridol con *E. histolytica* es letal aunque faltaría saber porque solo hay interacción con la ameba y no con el hospedero. Una hipótesis que podría explicar esta interacción es que en los extractos crudos existen compuestos que impide una adecuada interacción molecular con células del hospedero, impidiendo de alguna forma el efecto genotóxico; sin embargo, una elevada concentración afectaría funciones del sistema nervioso lo que explicaría el efecto paralizante y narcótico que se reporta tanto en nemátodos como humanos y que puede tener consecuencias fatales.

Por otro lado tenemos que *C. erecta texana* mostró una buena actividad en la mayoría de sus extractos crudos siendo importante destacar que ya existen estudios con esta planta, entre los que destacan los de *Calzado et al.* (1986 y 2000) y que han llevado al aislamiento de muchas sustancias con actividad antiprotozoaria tales como la chaparramarina, la castelalina, chaparrín, el cumaroilo y el amaroilo; (Díaz de León, 2005; Mendoza y Godínez, 2007).

La actividad antiamébrica de los extractos de *C. erecta texana* estudiados en la presente disertación en las fracciones de metanol y hexano fue la más importante (Figs. 20 y 22), probablemente porque las características de estos disolventes extrajeron una mayor concentración de cuasinoídes afines a estas polaridades que en la fracción acuosa.

En estudios previos se había reportado que la fracción acuosa presentan buena actividad antiamébrica. Esta discrepancia se podría justificar en el modelo biológico utilizado ya que en esos reportes previos se utilizó a *Entamoeba invadens* como modelo para los bioensayos *in vitro* lo cual no puede extrapolarse con lo que ocurre con *E. histolytica* por varias razones, una de ellas es que se trata de una ameba que parasita reptiles y no al humano; otra que en estos estudios se probó la inhibición de la viabilidad de los quistes por acción de los extractos lo cuál no puede extrapolarse a *E. histolytica* debido a que ésta no puede formar quistes en condiciones de laboratorio así como tampoco se ha comprendido como se desencadena el proceso de enquistamiento.

Una razón más es que *E. invadens* a pesar que pertenece al mismo género no guarda relación filogenética cercana con *E. histolytica* lo cual puede representar un problema importante para hacer extrapolaciones de sus estudios (Diamond y Clark, 2001).

En cuanto a los reportes con otras fracciones se conocen los resultados de la tesis doctoral de Calzada (2000) donde se reporta que el extracto cloroformo – metanol de *C. erecta texana* actúa sobre el 50 % de los trofozoítos a una concentración de 46.84 µg/ml, una cifra cercana a la que se obtuvo en este trabajo con el extracto metanólico donde se reportó una supervivencia del 50.17% (± 3.08) de los trofozoítos a una concentración de 50 µg/ml (Figura 20), lo cual es interesante ya que se corroboran los resultados del trabajo previo de ese autor.

El caso de *L. virginicum* también señala reportes previos donde se han aislado compuestos con actividad antiprotozoaria. Uno de estos trabajos es la tesis de licenciatura de Barbosa (2000) y la disertación doctoral de Calzada (2000) donde se reporta una concentración inhibitoria del 50 % de los trofozoítos en 100.18 µg/ml del extracto metanólico crudo lo cual difiere de lo que se encontró en este estudio donde actuó como inhibitorio hasta los 150 µg/ml (Fig. 20); sin embargo, se encontró que las extractos de agua, diclorometano y hexano fueron efectivos desde 100 µg/ml (Figs. 19, 21 y 22), concentración similar al extracto metanólico que reportaron Barbosa (2000) y Calzada (2000).

En cuanto al compuesto aislado en los estudios previos, se demostró que presenta actividad antiprotozoaria efectiva para el 50 % de la población a una concentración 20.39 µg/ml contra *E. histolytica*. Este compuesto de alta polaridad fue aislado de la fracción metanólica según lo describe Barbosa (2000).

En este estudio se encontró que tanto el extracto acuoso como el hexánico tuvieron efectividad similar y mayor respectivamente (Figs. 19 y 22) que el extracto metanólico reportada en la literatura. En contraste el extracto metanólico probado en este estudio presentó poca actividad (Fig. 20) a diferencia de lo reportado por Barbosa (2000) y Calzada (2000).

Químicamente, la sustancia responsable de la actividad antiamebica podría ser la glucotropeolina descrita en la literatura y probablemente podría encontrarse separada en la fracción acuosa que se estudió en el presente trabajo. Esta hipótesis se respalda por la cinética química de los glucosinolatos, grupo al que pertenece la glucoproteolina, los cuales se activan cuando son hidrolizados, sin embargo, no hay que descartar la posibilidad que se trate de otro compuesto. Por su parte en la fracción hexánica la actividad antiamebica debe ser responsable de un compuesto de baja polaridad.

El estudio reportado en esta disertación resultó muy importante no sólo porque valida el uso medicinal de estas tres especies vegetales usadas contra la entamoebosis, sino porque también apoya otros estudios previos realizados y al mismo tiempo aporta información sobre la actividad amebicida de los extractos acuosos cuyos reportes en la literatura son escasos o nulos y que en este trabajo se incluyó debido a su importancia de uso ya que en este medio se preparan las infusiones que son la forma más común para preparar el remedio tradicional. También se reporta la actividad de las fracciones diclorometano y hexano, las cuales tuvieron un efecto sobresaliente y que resulta en nuevo conocimiento, porque no se encontraron reportes previos de las mismas.

En cuanto a las especies estudiadas se seleccionaron en base a la literatura etnobotánica, consultando a autores como a Martínez (1979 y 1989) y Aguilar *et al.* (1994a y b) quienes reportan a estas especies como muy conocidas en diferentes partes del territorio nacional tanto por su abundancia y/o sus diferentes usos.

Por otro lado, las pruebas siempre se enfocaron en la actividad antiamebica de los extractos crudos y por ello no se llevó a cabo el aislamiento y purificación de los compuestos fitoquímicos responsables del efecto medicinal de cada planta ya que esto rebasaba el objetivo de trabajo en el que se consideró más importante hallar actividad contra *E. histolytica*, esto porque las plantas estudiadas suelen ser reportadas también contra otros endoparásitos cuyas enfermedades tiene síntomas similares pero los tratamientos químicos son muy diferentes. De hecho la literatura etnobotánica menciona explícitamente que las tres plantas son reportadas popularmente con uso medicinal

contra las amebas, lombrices, empacho, diarrea y vómito (Martínez, 1979 y 1989; Aguilar *et al.*, 1994a y b).

Esto demuestra que su estudio es importante ya que su actividad puede ser equiparable o mejor a lo que se encuentra en otras fracciones. Así mismo se hizo el estudio del extracto acuoso en el que destaca *L. virginicum* y *C. ambrosioides*, ambas especies mostraron tener actividad similar a una concentración de 100 µg/ml donde se observó la supervivencia de 44.70 % (\pm 3.18) y 50.90 % (\pm 3.03) respectivamente, lo cual es similar a lo que reportan Barbosa (2000); Calzada (2000) y Calzada *et al.*(2006) con extractos de metanol y cloroformo – metanol cuya actividad se presentó en 100.18 µg/ml y 105 µg/ml (*L. virginicum*); y 112.6 µg/ml (*C. ambrosioides*). Esto sugiere la presencia de compuestos que afectan a *E. histolytica* como sustancias de alta polaridad y quizá se tratan de los mismos que han sido aislados, o bien de compuestos de familias químicas similares, los cuales son extraídos en este disolvente y se encuentran presentes en el remedio tradicional que se utiliza para combatir la entamoebosis y cuya actividad es equiparable a la que se encuentra en las fracciones estudiadas por los autores mencionados.

También es importante destacar que el estudio que se llevó a cabo en la presente disertación prueba que los compuestos disueltos en los diferentes extractos de las tres plantas presentan actividad contra *E. histolytica* en pruebas *in vitro*, lo cual sin duda justifica el uso medicinal de las mismas; sin embargo, también hay que mencionar que se debe investigar cuál es la naturaleza de estas sustancias y si alguna de ellas puede tener efectos citotóxicos o genotóxicos. En este aspecto existen estudios como el de Reyes *et al.* (2005) quienes reportan que las sustancias disueltas en el extracto acuoso de *C. erecta texana* no presenta estos efectos pero faltaría estudiar que ocurre con los otros extractos y con las otras plantas. Así mismo se tiene que estudiar como es que estas sustancias se absorben para llegar hasta los trofozoítos, si solo actúan en la infección intestinal o si pueden funcionar en la forma invasiva llegar hasta órganos para poder entonces tratar la infección invasiva.

Por otro lado también cabe señalar que los extractos presentan una actividad muy lejana a la que presenta el metronidazol que es efectivo para el 50 % de la población a concentraciones de 0.04 µg/ml, pero esto se debe a que este fármaco ha sido aislado y purificado lo cual le permite interactuar activamente con algún sitio específico o con alguna molécula diana, no obstante que el fármaco se encuentra en mayor cantidad y de forma constante ya que en el extracto crudo los compuestos pueden estar en cantidades que pueden variar en su biodisponibilidad como se señaló anteriormente. Así mismo, la presencia de ciertos elementos químicos en una molécula, modifican su afinidad con otras moléculas a las que se unen. Por otro lado, también se ha encontrado que varios de los extractos actúan a una concentración menor que la emetina, otro de los fármacos utilizados en el tratamiento de la entamoebosis y que actúa a concentraciones de 135 µg/ml.

Por otro lado, el tema del uso de plantas medicinales como fitomedicamentos ha tomado fuerza a partir de los estudios que se han realizado al respecto donde se reportan menores efectos secundarios en su empleo y por tal razón en Europa y Estados Unidos se ha comenzado a emplearse cada vez más donde ocupan ya la mitad del mercado farmacéutico (Alonso, 2001; Wagner, 2006), lo cual señala que en un futuro existirá una demanda mayor de alternativas basadas en la fitoterapia.

Por último solo falta mencionar que la búsqueda de nuevas sustancias en el combate de muchas otras enfermedades parasitarias causadas por protozoos ha llevado a estudiar los efectos que tienen los extractos que se han ido probando sobre otros protozoos y los cuales se basan en la naturaleza de los tratamientos para su combate como es el caso de los trabajos que fueron consultados previamente y que fundamentan esta disertación.

En estos otros estudios dirigidos a encontrar propiedades antiprotozoarias de las plantas que fueron estudiadas se han llevado a cabo una serie de trabajos de pruebas *in vitro* contra protozoos como *Trypanosoma cruzi* y *Giardia lamblia* (Calzada *et al.* 1998; Alanis, 2000; Barbosa, 2000; Echeverría y Torres, 2000; Arrieta *et al.*, 2001; Kiuchi *et al.*, 2002; Alanis *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2003; Calzada *et al.*, 2005; Fumiko *et al.*, 2005; Said

et al., 2005; Calzada *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2007 y Moo-Puc *et al.*, 2007), de hecho este último protozoo suele ser estudiado conjuntamente con *E. histolytica* porque ambos se tratan con emetina y metronidazol aunque con diferente dosificación. Los resultados han arrojado que muchas plantas que actúan contra *E. histolytica* también lo hacen contra *G. lamblia*, aunque esta actividad es variable.

Los estudios con *T. cruzi* solo han encontrado efectos contra este parásito en ciertas etapas del ciclo de vida sobre todo en la denominada epimastigote en los que se han utilizado extractos de *C. ambrosioides* y *C. erecta texana* que han sido estudiados también con ese fin (Fumiko *et al.*, 2005), mientras que en los trabajos con *C. ambrosioides* se ha encontrado que algunos de sus compuestos aislados presentan muy buena actividad contra ese parásito flagelado (Kiuchi *et al.*, 2002).

Es importante hacer énfasis en que los extractos crudos pueden presentar una actividad elevada en sus concentraciones pero que dentro de éstos existen sustancias que una vez aisladas pueden tener una actividad bastante alta a concentraciones muy pequeñas y las cuales en dado caso son las responsables de actuar contra el protozoo tal como sucede con el metronidazol del cual ya se había discutido con anterioridad al respecto. Sin embargo, también pueden presentarse compuestos que potencialicen o sinergicen la acción de otros, por lo que lo mejor puede ser el uso del extracto crudo efectivo más cercano al acuoso.

De acuerdo con los resultados de todos los extractos estudiados y tomando en cuenta al extracto acuoso, que es la forma de curarse o de tratamiento tradicional que utiliza la gente, se puede considerar que los productos presentes en las tres especies vegetales son efectivos en el tratamiento de la entamoebosis.

CAPÍTULO

9

Conclusiones y Perspectivas.

IX. Conclusiones y perspectivas.

9.1 Conclusiones

Se demostró que las fracciones con solventes orgánicos de mediana y baja polaridad presentaron una buena actividad antiamebica en las tres plantas, siendo *Chenopodium ambrosioides* el que mostró la mejor actividad. Así mismo se encontró que la fracción hexánica presentó una de las mejores actividades contra el parásito para las tres plantas.

Los resultados obtenidos en los extractos acuosos validan y al mismo tiempo justifican el uso medicinal que se da a estas plantas para combatir la entamoebosis.

9.2 Perspectivas

En este trabajo se encontraron resultados importantes en cuanto a la actividad de las fracciones acuosas y las orgánicas de mediana y baja polaridad. Dado que esto contribuye al estudio de plantas medicinales usadas en la medicina tradicional mexicana contra desordenes gastrointestinales, se publicarán los resultados obtenidos, lo cual enriquece el conocimiento científico que se tiene sobre las mismas y a su vez rescata ese conocimiento popular que se ha ido perdiendo.

Se propone continuar este estudio por dos vías; una que incluya el pruebas *in vivo* en modelos animales en donde se induzca la enfermedad y se busque la curación de la misma, ya sea en la infección intestinal y/o en la infección invasiva. La otra que se enfoque al aislamiento y caracterización de los compuestos presentes en cada fracción estudiada (estudio fitoquímico), así como investigaciones enfocadas a dilucidar el mecanismo de acción. Todas estas áreas de estudio conforman parte de la investigación que debe realizarse para tener un control de calidad en el procesamiento de plantas medicinales potencialmente útiles en la elaboración de fitomedicamentos.

CAPÍTULO

10

Literatura

Consultada.

X. Literatura consultada

1. Aguilar, A., J. R. Camacho., S. Chino., P. Jácquez y M. E. López. 1994a. *Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica*. IMSS, México, 253 pp.
2. Aguilar, A., J. R. Camacho., S. Chino., P. Jácquez y M. E. López. 1994b. *Plantas Medicinales del Herbario IMSS. Cuadros Básicos por Aparatos y Sistemas del Cuerpo Humano*. IMSS, México, 218 pp.
3. Aguirre-Cruz, M. L., A. Valadez-Salazar y O. Muñoz. 1990. *In vitro* sensitivity of *Entamoeba histolytica* to metronidazole. *Archivos de Investigación Médica* (México) 1: 23-26.
4. Aladro-Lubel, M. A. 2006. *Principales Clasificaciones de Protozoos*. Las Prensas de Ciencias, UNAM México, 90 pp.
5. Alanis R., A. D. 2000. (-)Epi-catequina, principio con actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* obtenido de las partes aéreas de *Rubus coriifolius* Focke (Rosaceae). Tesis de Maestría (Maestría en Ciencias Químicas (Farmacia (Químico Farmaceutica)), Facultad de Química, UNAM, México, 162 pp.
6. Alanis, A. D., F. Calzada., R. Cedillo-Rivera y M. Meckes. 2003. Antiprotozoal activity of the constituents of *Rubrus coriifolius*. *Phytotherapy Research* 17: 681-682
7. Alonso, J. 2001. Aplicación de los fitofármacos en la clínica diaria. p. 79-88. En: Lozoya, X. (ed). *5° Simposium Internacional de Fitofármacos. Los Fitofármacos en la Clínica Moderna*. IMSS, Farmasa-Schwahe, 1er. Simposio Internacional, Guadalajara, Jalisco, México.
8. Alonso, J. 2004. *Tratado de Fitofármacos y NoTRACEÚTICOS*. Editorial Corpus, Argentina, 1359 pp.
9. Arrieta, J., B. Reyes., F. Calzada., R. Cedillo-Rivera y A. Navarrete. 2001. Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmanniaum*. *Fitoterapia* 72: 295-297
10. Barbosa, E. 2000. Glucotropeolina, compuesto con actividad contra *Entamoeba histolytica* aislado del extracto metanólico de la raíz de *Lepidium virginicum* L. Tesis Profesional de Licenciatura (Química Farmacéutica Bióloga). Facultad de Química, UNAM, México, 50 pp.

11. Barbosa, E., F. Calzada y R. Campos. 2007. *In vivo* anti-giardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology* 109: 552-554
12. Barrón-González, M. P., G. C. Serrano-Velázquez., L. Villareal-Treviño., B. D. Mata-Cárdenas., J. A. Verduzco-Matínez y M. R. Morales-Vallarta. 2006. Acción inhibitoria de probióticos sobre el crecimiento axénico de *Entamoeba histolytica*. *Revista Salud Pública y Nutrición* 7 (2). Disponible en: http://www.respyn.uanl.mx/vii/2/articulos/accion_inhibitoria.htm
13. Beaver, P.C., R.C. Jung y E.W. Cupp. 1986. *Parasitología Clínica*. Salvat Mexicana de Ediciones, México. 882 pp.
14. Biagi, F. 1976. *Enfermedades Parasitarias*. La Prensa Médica Mexicana, México, 376 pp.
15. Bogitsh, B.J., C.E. Carter y T.N. Oeltmann. 2005. *Human Parasitology*. Elsevier Academic Press, EUA, 459 pp.
16. Botero, D. y M. Restrepo. 1999. *Parasitosis Humana*. Corporación para las Investigaciones Biológicas, Colombia, 457 pp.
17. Calzada B., F. 2000. Proantocianidinas de tipo A y flavonoles con actividad antiprotozoaria de *Geranium niveum* S. Watson (Geraniaceae) y *Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron (Asteraceae). Tesis doctoral (Doctorado en Ciencias Químicas (Farmacia)), Facultad de Química, UNAM, México, 331 pp.
18. Calzada, F., M. Meckes, R. Cedillo-Rivera, A. Tapia-Contreras y R. Mata. 1998. Screening of mexican medicinal plants for antiprotozoal activity. *Pharmaceutical biology* 36 (5):305-309
19. Calzada, F., C. Velásquez., R. Cedillo-Rivera y B. Esquivel. 2003. Antiprotozoal activity of the constituents of *Teloxys graveolens*. *Phytotherapy Research* 17: 731-732.
20. Calzada, F., J. A. Cervantes-Martínez y L. Yépez-Mulia. 2005. *In Vitro* anti-protozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *Journal of Ethnopharmacology* 98:191-193.
21. Calzada, F., L. Yépez-Mulia y A. Aguilar. 2006. *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia Lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 108:367-370

22. Calzado-Flores, C., J. J. Segura-Luna., X. A. Domínguez y S. García-González. 1986. *Castela texana*: cernimiento de su actividad antiamibiana. *Archivos de Investigación Médica (Mex)* 17: 127
23. Calzado-Flores, C., J. Verde-Star., M. Morales-Vallarta y J. J. Segura-Luna. 2000. Possible Inhibition of *Entamoeba invadens* Encystation by *Castela texana*. *Archives of Medical Research* 31: S 196-197
24. Campbell, D., B. J. Mann y K. Chadee. 2000. A subunit vaccine candidate region of the *Entamoeba histolytica* galactose-adherence lectin promotes interleukin-12 gene transcription and protein production in human macrophages. *European Journal of Immunology* 30(2): 423-430.
25. Cano S., Z. 2002. ¿Como escribir una tesis? *Ciencias* 65: 68-75 *
26. Cárdenas, M. 2004. Protozoarios de importancia en la salud pública transportados por *Musca doméstica* Linnaeus en Lima, Perú. *Revista Peruana de Biología* 11(2):149-153
27. Castillo A., S., Y. Martinez O., M. Romero R., P. Guadarrama C., O. Nuñez C., I. Sánchez G. y J. Meave. 2007. *La Reserva del Pedregal de San Angel. Aspectos Florísticos y Ecológicos*. Departamento de Ecología y recursos naturales, Facultad de Ciencias, UNAM, México, 294 pp.
28. Ceceña M., L. E. 2000. Amibiasis. Tesina de Especialidad (Medicina Interna), Facultad de Medicina, UNAM, México, 41 pp.
29. Chandler, A. C. y C. P. Read. 1961. *Introduction to Parasitology. With Special Reference to the Parasites of Human*. John Wiley and Sons, Toppan Printing Company, Ltd., Japón, 822 pp.
30. Cimanga, R. K., K. Kambu., L. Tona., N. hermans., S. Apers., J. Totté., L. Pieters y A. J. Vlietinck. 2006. Citotoxicity and *in vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* to *Morinda morindoides* leaf extracts and its isolated constituents. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 83-90.
31. Clark, C.G. y L.S. Diamond. 1993. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (emmended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 40: 340-344
32. Corliss, J. 1994. An interim utilitarian (“user-friendly”) hierarchical classification and characterization of the protists. *Acta Protozoologica* 33: 1-51

* Nota del autor: Aunque esta referencia no esta citada en el texto, el artículo publicado por el Dr. Zenón Cano Santana fue ampliamente consultado y utilizado para la escritura de esta disertación, por lo tanto se considera importante dar el crédito que corresponde.

33. Diamond, L. S. y I. L. Bartgis. 1971. Axenic cultures for *in vitro* testing of drugs against *Entamoeba histolytica*. *Archivos de Investigación Médica* 2: S 339-348.
34. Diamond, L. S. y C. G. Clark. 2001. Entamoeba and Entamoeba histolytica. *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group/www.els.net
35. Díaz, J. L. 1976. *Índice y Sinonimia de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas I*. IMEPLAM, México, 358 pp.
36. Diaz de León C., C. 2005. Revisión sobre los nortriterpenos aislados de la familia *Simaroubaceae*, y sobre un arbusto medicinal mexicano "chaparro amargoso" (*Castela erecta subsp. texana*). Tesis Profesional de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo), Facultad de Química, UNAM, México, 96 pp.
37. Echevarria, A. y D. Torres I. 2000. Efecto de un extracto de *Petiveria alliacea* Lin sobre el crecimiento de *Giardia lamblia in vitro*. *Revista Cubana de Medicina Militar* 30(3): 161-165.
38. Fariborz, M. G., D. Najaf., Y. Kamyar y S. Afshin. 2003. Efficacy of *Saccharomyces boulardii* with antibiotics in acute amoebiasis. *World Journal of Gastroenterology* 9(8): 1832-1833.
39. Fumiko, A., S. Nagafuji., M. Okawa., J. Finjo., H. Akahane., T. Ogura., M. A. Martínez-Alfaro y R. Reyes-Chilpa. 2005. Trypanocidal constituents in plants 5. Evaluation of some mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in seeds of *Persea americana*. *Biological Pharmaceutical Bulletin* 28(7) 1314-1317.
40. Gallardo G., M. A. 2006. Frecuencia de parásitos intestinales en derechohabientes que asisten al CLIDDA, mediante la técnica de Faust, durante el periodo de agosto 2003 - julio 2004. Tesis Profesional de Licenciatura (Bióloga), Facultad de Ciencias, UNAM, México 150 pp.
41. García G., M. 2006. Bacterias lácticas. *Ciencia y desarrollo* 32(196): 38-43.
42. Guerra O, M., D. Torres I. y L. Matínez. 2001. Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2: 48-51
43. Guzmán, F. 2006. Desarrollan fármaco y vacuna contra amibiasis. *Gaceta UNAM* (3 941), p 7-8
44. [http://ciencia.glosario.net/agricultura/herb%E1ceo-cea-\(adj.\)-11455.html](http://ciencia.glosario.net/agricultura/herb%E1ceo-cea-(adj.)-11455.html) (consultado el 7 de marzo del 2008).
45. <http://es.mimi.hu/medicina> (consultado el 7 de marzo del 2008).
46. <http://es.wikipedia.org/wiki/Antabus> (consultado el 7 de marzo del 2008).

47. http://uvalde.tamu.edu/herbarium/final/cate_wp.jpg (consultada el 21 de febrero de 2008)
48. <http://www.biologie.uni-hamburg.de/bonline/ibc99/botanica/botanica/glosario/glosaes.htm> (consultado el 7 de marzo del 2008).
49. <http://www.bioquimica.cl/enciclopedia/enciclopedia.php?accion=vertermino&termino=lectina> (consultado el 7 de marzo del 2008).
50. http://www.cancer.gov/Templates/db_alpha.aspx?CdrID=44690&lang=spanish (consultado el 7 de marzo del 2008).
51. <http://www.definicion.org/diccionario/28> (consultado el 7 de marzo del 2008).
52. <http://www.cdc.com> (consultada el 21 de febrero de 2008)
53. http://www.facmed.unam.mx/catalogo/imprime_todos.php?id_muestra=376 (consultada el 21 de febrero de 2008)
54. <http://www.guiaroji.com.mx> (consultada el 21 de febrero de 2008)
55. <http://www.wordreference.com/definicion> (consultado el 7 de marzo del 2008).
56. Juárez, J. A. 1998. Efectos secundarios del metronidazol, en el tratamiento de la amibiasis intestinal, en pacientes de 18 a 50 años de edad. Tesis de especialización (Medicina Familiar). Facultad de Medicina, UNAM, México. 45 pp.
57. Kiuchi, F., Y. Itano., N. Uchiyama., G. Honda., A. Tsubouchi., J. Nakahima-Shimada y T. Auki. 2002. Monoterpene hydroperoxides with trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Natural Products* 65: 509-512.
58. Kubo, I., Y. Murai y S. Chaudhuri. 1993. Castelalin, a quassinoid from *Castela tortuosa*. *Phytochemistry* 33: 461-463.
59. Kudo, R. 1966. *Protozoología*. Compañía Editorial Continental, México, 905 pp.
60. Lambert, R. A. 1976. *Parasitología. Identificación de Protozoarios*. Editorial El Manual Moderno, México, 102 pp.
61. Lamy, L.H. 1980. *Protozoaires et Helminthes Parasites. Recherche et Identification au Laboratoire*. Maloine, Paris, 622 pp.
62. Lee, J. J., S. H. Hutner y E. C. Bovee (eds). 1985. *An Illustrated Guide to Protozoa*. Lawrence, K. S.: Society of Protozoologists, EUA, 629 pp.

63. Lievano A., M. A. 1999. Farmacia hospitalaria y comunitaria: Farmacoterapia de la amibiasis. Trabajo de seminario (Química Farmacéutica Bióloga), Facultad de Estudios Superiores Cuaútitlan, UNAM, México, 135 pp.
64. Lom, J. 2002. Protozoan symbioses. *Encyclopedia of Life Sciences*. McMillan Publishers Ltd., Nature Publishing Group/www.els.net
65. López M., A. 2007. La vida interior. *¿Cómo ves?* 106: 10-14.
66. MacFarlane, L.R.S. 1960. *A Short Synopsis of Human Protozoology and Helminthology*. E. y S. Livingstone Ltd, Gran Bretaña, 251 pp.
67. Martínez, M. 1979. *Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas*. Fondo de Cultura Económica, México, 1220 pp.
68. Martínez, M. 1989. *Las Plantas Medicinales de México*. Botas, México, 656 pp.
69. Mehlhorn, H. 2001. Protozoan pathogens of humans. *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group/www.els.net
70. Méndez, I. 1976. Comparación de medias de población. *Comunicaciones Técnicas* 3 (17). Serie Azul: Monografías. IIMAS, UNAM.
71. Mendoza, M. y H. Godínez. 2007. El chaparro amargoso, ¿atrapado sin salida? *Ciencias* 86: 34-36
72. Moo-Puc, R. E., G. J. Mena-Rejon., L. Quijano y R. Cedillo-Rivera. 2007. Antiprotozoal activity of *Senna racemosa*. *Journal of Ethnopharmacology* 112: 415-416.
73. Osuna, L., M. E. Tapia-Pérez., O. Figueroa., E. Jiménez-Ferrer., M. L. Garduño-Ramírez., M. T. González-Garza., P. Carranza-González y D. E. Cruz-Vega. 2006. Micropropagation of *Lepidium virginicum* (Brassicaceae), a plant with antiprotozoal activity. *In Vitro Cell Development Biology* 42: 596-600
74. Padayachee, T. y B. Odhav. 2001. Anti-amoebic activity of plant compounds from *Virgilia oroboides* and *Chlorophora excelsa*. *Journal of Ethnopharmacology* 78: 59-66.
75. Pérez-Trallero, E. y L. Iglesias. 2003. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enfermedades e Infecciones Microbiológicas Clínicas* 21 (9): 520-529
76. Ravdin, J. I., M. D. Abd-Alla., S. L. Welles., S. Reddy y T. F. H. G. Jackson. 2003. Intestinal antilectin immunoglobulin A antibody response and immunity to *Entamoeba dispar* infection following cure of amebic liver abscess. *Infection Immunology* 71(12): 6899-6905.

77. Reiche, C. 1963. *Flora Excursoria en el Valle Central de México*. Politécnica, México, 303 pp.
78. Reyes-Lopez, M., S. Villa-Treviño., M. Arriaga-Alba., L. Alemán-Lazarini., M. Rodríguez-Mendiola., C. Arias-Castro., S. Fattel-Fazenda y M. de la Garza. 2005. The amoebicidal aqueous extract from *Castela texana* possesses antigenotoxic and antimutagenic properties. *Toxicology in vitro* 19:91-97.
79. Rimada, R., R. Jeandupeux y L. Cafferata. 2007. La estabilidad térmica del ascaridol en solución acuosa. Su importancia en la acción farmacológica. *Latin American Journal of Pharmacy* 26 (1):115-118.
80. Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski. 2005. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), México, 1406 pp.
81. Said F., S., M. C. Ramos G., B. D. Mata C., J. Vargas V. y L. Villarreal T. 2005. *In vitro* antiprotozoal activity of the leaves of *Artemisia ludoviciana*. *Fitoterapia* 76: 466-468
82. Sánchez, G. A. 1990. Factores ecológicos y culturales en la distribución de las plantas medicinales del género *Castela* spp. y *Argemone* spp. Tesis profesional de Licenciatura (Bióloga), ENEP-Iztacala, UNAM, México, 184pp.
83. Sawangjaroen, N., K. Sawangjaroen y P. Poonpanang. 2004. Effects of *Piper longum* fruti, *Piper sarmentosum* root and *Quercus infectoria* nut gall on caecal amoebiasis in mice. *Journal of Ethopharmacology* 91: 357-360.
84. Sawitz, W.G. 1956. *Medical Parasitology. For Medical Students and Practicing Physicians*. The Blaskiston Division McGraw-Hill Book Company, EUA, 342 pp.
85. Segura, J., L. H. Morales-Ramos., J. Verde-Star y D. Guerra. 1990. Growth inhibition of *Entamoeba histolytica* and *E. invadens* produced by pomegranate root (*Punica granatum* L.). *Archivos de Investigación Médica* 21: 235-239.
86. Simperndorfer, E. 1944 Intoxicación por ascaridol. *Revista Chilena de Pediatría* 15 (5): 388-393. Disponible en: www.scielo.cl/
87. Sleight, M. A. 1989. *Protozoa and Other Protists*. Edward Arnold, Gran Bretaña, 342 pp.
88. Snow, M. y S. L. Stanley Jr. 2006. Recent progress in vaccines for amebiasis. *Archives of Medical Research* 37: 280-287
89. Solis, T. M. 2001. Determinación de la frecuencia de parasitosis intestinales en humanos mediante la técnica de Faust en la Ciudad de México Ene-Dic de 1998. Tesis profesional de Licenciatura (Bióloga), Facultad de Ciencias, UNAM, México, 80 pp.

90. Spencer, F. M. y L. S. Monroe. 1961. *The Color Atlas of Intestinal Parasites*. Charles C. Thomas, Publisher, EUA, 142 pp.
91. Stanley, S. L. Jr. 1997. Progress towards development of a vaccine for amebiasis. *Clinical Microbiology Review* 10: 637-649.
92. Tay, Z. J., C. O. Velasco., A. R. Lara y Q. M., Gutiérrez. 2002. *Parasitología Médica*. Méndez Editores, México, 504 pp.
93. Tona, L., K. Kambu., N. Ngimbi., K. Cimanga y A. J. Vlietinck. 1998. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolense medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 61: 57-65.
94. Upcroft, J., R. W. Campbell., K. Benakli., P. Upcroft y P. Vanelle. 1999. Efficacy of new 5-nitroimidazole against metronidazole-susceptible and resistant *Giardia*, *Trichomonas*, and *Entamoeba* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43: 73-76.
95. Upcroft, P. y J. Upcroft. 2001. Drugs targets mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clinical Microbiology Reviews* 14: 150-164.
96. Uruchurtu, G. 2007. De la selva a la farmacia. *¿Como ves?* 99: 30-33
97. Vargas V., F. 2006. Probióticos. *Ciencia y desarrollo* 32(196): 44-47.
98. Venalocha, B. y S. Cañigeral (eds.). 2003. *Fitoterapia. Vademecum de Prescripción*. Masson, España, 1091 pp.
99. Vizoso P, A., A. García L., A. Ramos R., J. Pilot F., V. Pavón G. y M. Penichet. 2000. Evaluación mutagénica de un extracto fluido con menstroo etanólico al 70% de *Teloxys ambrosioides* L. Weber (apasote). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 5 (3):102-105.
100. Wagner, H. 2006. Futuro de la investigación en fitoterapia: tendencias y retos. *Revista de Fitoterapia* 6(2): 101-117.
101. Warhurst, D. 1999. Amoebiasis. p. 548-559. En: Gilles, H. M. (ed.). *Protozoal Diseases*. Arnold, Gran Bretaña, 707 pp.
102. Zhang, Z., M. Duchene y S. L. Jr. Stanley. 2002. A monoclonal antibody to the amebic liphosphoglycan-proteophosphoglycan antigens can prevent disease in human intestinal xerografts infectes with *Entamoeba histolytica*. *Infection Immunology* 70(10): 5873-5876.

Anexos.

ANEXO

A

Glosario.

A

Alcantarillado: (= drenaje). Sistema de canales, tubos o cualquier otro cause cerrado, generalmente subterráneo, por el cual es conducida el agua que se desecha en una habitación, o bien, aquella que se acumula en las calles a causa de la precipitación pluvial.

ameba: (= amiba). Nombre que recibe el organismo unicelular eucarionte cuya forma celular puede cambiar o deformarse a causa del desplazamiento el cual ocurre por proyección del citoplasma.

amebiasis: (= amebosis, amibiasis, amibosis). Ver Entamoebosis.

ameboide: Adjetivo que se aplica a toda célula cuya forma es indefinida o la cual cambia a consecuencia. También se le denomina al movimiento locomotor celular que se origina por el desplazamiento de la masa citoplasmática.

androceo: Estructura o región donde se localizan los órganos reproductores masculinos, constituido por los estambres. Conjunto de los órganos masculinos de la flor.

antihelmíntico (a): Sustancia o cosa que tiene la propiedad de matar a las lombrices parásitas.

Antiprotozoaria (o): Sustancia o cosa que tiene la propiedad de matar protozoos parásitos

astenia: (= cansancio) síntoma que consiste en la pérdida física o psicológica de la fuerza o el deseo que se requiere para realizar alguna actividad.

atonía: Término médico que hace referencia a la falta de tono y vigor, o bien, debilidad de los tejidos orgánicos, particularmente de los contráctiles.

B

Bacteria: Organismo unicelular de constitución simple, carente de orgánulos, así como de una estructura donde se proteja el material genético denominada núcleo, aunque existe una regionalización donde se encuentra localizado este material.

C

Cariosoma: Término antiguo que recientemente se ha vuelto a utilizar por algunos investigadores para referirse a la estructura o cuerpo sólido, un poco grande, constituido por cromatina densamente compactada y ADN (reacción positiva de Feulgen), que ocupa el centro u otro sitio del núcleo celular de algunos protozoos, generalmente en los miembros parásitos de la familia Entamoebidae del Phylum Rhizopoda.

carpelo: Cada una de las estructuras que llevan los óvulos y forman el gineceo. En las angiospermas forman el ovario. Evolutivamente se considera una hoja modificada.

caulino: Calidad de caulinar. Adjetivo que se aplica a lo que es concerniente o relativo al tallo.

cefálea: (= jaqueca). Síntoma que consiste en el dolor de varios de los tejidos musculares del cuello, los cuales dan como resultado el dolor aparente de la cabeza.

colon: (= intestino grueso). Nombre que recibe la porción del intestino donde se lleva a cabo la fermentación y absorción de líquidos principalmente, así como otras sustancias de los alimentos como parte del proceso final de la digestión antes que ocurra la expulsión de las partes no asimiladas o degradadas de los mismos. Esta región comienza desde el ciego y termina en el recto.

comensal: Nombre que reciben los organismos cuya relación entre sí consiste en aprovechar las sustancias nutritivas de un alimento en común sin que esto traiga consigo un beneficio ó perjuicio.

concrecente: Órgano que crece adherido a otro. Aplícase a los órganos que pudiendo hallarse separados, están unidos congénitamente.

constipación: (= estreñimiento). Eliminación de las heces demasiado duras o con un ritmo menor para un individuo determinado. Dificultad para el paso de las heces o paso incompleto o infrecuente de heces compactas.

corea: Enfermedad crónica o aguda del sistema nervioso central, que ataca principalmente a los niños y se manifiesta por movimientos desordenados, involuntarios, bruscos, de amplitud desmesurada, que afectan a los miembros y a la cabeza.

cosmopolita: Adjetivo que se aplica al organismo que se le localiza o es capaz de sobrevivir en cualquier parte del mundo.

cuerpos cromatoides: Estructuras típicas de los quistes de las amebas parásitas del género *Entamoeba* (Phylum Rhizopoda) cuyo composición principal es ARN y las cuales están presentes hasta que ocurre la maduración del quiste.

D

Defecamiento: Acción y efecto de defecar. Acto que consiste en la expulsión o deposición de las heces como parte del proceso final de la digestión.

diarrea: Padecimiento que consiste en la deposición de heces pastosas, líquidas o semilíquidas a consecuencia de un desorden gastrointestinal, a consecuencia de diversas causas entre las que figuran la presencia de organismos patógenos, intoxicación, estrés, entre otras.

digitiforme: Adjetivo que se aplica a toda estructura o cosa cuya forma recuerda la de un dedo humano. Forma alargada que presentan algunos organismos unicelulares.

disentería: Padecimiento que consiste en la deposición de heces semilíquidas acompañadas de hemorragias.

dehiscente: Que presenta dehiscencia; es decir, todo aquello que presenta liberación del contenido de un órgano. Por ejemplo, liberación de semillas del fruto, granos de polen de la antera, etc.

drupa: Fruto monospermo de mesocarpio carnoso, coriáceo o fibroso rodeado de un endocarpio leñoso con una semilla en su interior que se desarrollan de un único carpelo y en su mayoría de flores con ovarios superiores. Ejemplos: aceituna, mango, níspero, albaricoque, cereza, melocotón, nuez, ciruela, coco, chontaduro, etc.

E

Ectoplasma: Nombre que recibe la región citoplasmática más externa que presenta una diferenciación con respecto a una región más interna, en ocasiones delimitadas por estructuras, composición química o el contenido celular.

empacho: (= indigestión). Síntoma o malestar ocasionado por la mala digestión de algún alimento.

endoparásito: Organismo cuya relación parásita con otro se lleva a cabo en el interior de otro que sirve de hospedero.

endoplasma: Nombre que recibe la región citoplasmática diferenciada de otra más externa que la rodea que pueden o no estar separadas, física, química o estructuralmente.

endosoma: Término usado por muchos investigadores , sobre todo en aquellos que se dedican al estudio de ciertos protozoos (fitoflagelados) para referirse a la estructura o cuerpo nuclear constituido por ARN, el cual no esta asociado a ningún cromosoma y que persiste y se divide de manera independiente durante la mitosis . Este termino también es usado en para nombrar el cuerpo nuclear con contenido de ADN (reacción positiva de Feulgen) presente en los protozoos ciliados, el cual esta asociado al macronúcleo de algunos hipostómidos y conotricos. Éste termino también es utilizado por algunos investigadores como sinónimo de nucleólo en varios grupos de protozoos.

enquistamiento: Proceso que ocurre en algunos organismos como mecanismo de resistencia ante condiciones desfavorables para su desarrollo o sobrevivencia, el cual consiste en la producción de una estructura o pared gruesa formada por diversas secreciones celulares que tiene como función la protección y el aislamiento del medio en el que se encuentra.

entamoebosis: (= amebiasis, amibiasis). En humanos, enfermedad parasitaria intestinal o invasiva causada por el protozoo *Entamoeba histolytica*, cuyo cuadro clínico puede ser asintomático, causar disentería o absceso tisular u orgánico. Según cifras de la OMS esta enfermedad es la tercera causa de muerte mundial por parásitos. Este término es el que fue aceptado por la Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPD), para designar esta enfermedad.

eritrocito: (= célula roja). Célula especializada del sistema circulatorio presente en muchos organismos la cual tiene como función el transporte de diversas sustancias, entre ellas el oxígeno.

eritrofagocitosis: En eritrocitos, el mecanismo que se lleva a cabo para la ingestión de partículas de gran volumen, por prolongación, deformación y captura de la masa citoplasmática.

escorbuto: Es una condición o enfermedad causada por la deficiencia de ácido ascórbico en la dieta. Se caracteriza por debilidad general, anemia, enfermedad de las encías (gingivitis) y hemorragias de piel. Actualmente es una enfermedad poco común

espiga: Inflorescencia racemosa en la que las flores sentadas se disponen a lo largo de un eje erecto.

eucarionte: Tipo de célula que se caracteriza principalmente por poseer una estructura donde se almacena y protege el material genético denominada núcleo; así como, por la presencia de orgánulos aunque estos solo este presentes como reminiscencias o su pérdida fue por un proceso secundario.

excéntrico: Adjetivo o condición de aquella cosa que está fuera del centro o que tiene un centro diferente.

expectoración: Acción de expulsar por la boca las secreciones provenientes de las vías respiratorias.

exquistamiento: Proceso que ocurre cuando un organismo en estado de latencia se libera de una estructura denominada quiste que lo protegía de las condiciones desfavorables para su desarrollo o sobrevivencia.

F

Fecalismo: Conducta que consiste en la defecación en sitios abiertos, los cuales no cuentan con un espacio físico destinado para la recolección o el desalojo de las heces.

G

Glabra: En botánica, término que se aplica a la estructura carente de pelos o que existen en poco número

glanduloso: En botánica, termino que se aplica a la estructura cubierta de glándulas o con ésta apariencia.

glomérulo: Inflorescencia con pedicelos contraídos y de forma más o menos condensada y globulosa.

granuloma: Neoplasia o tumor formado por la formación de tejido granuloso que se encuentra en procesos infecciosos u otras enfermedadeso como reacción a ciertas agresiones externas del organismo.

H

Herbáceo (a): Relativo a hierba. Adjetivo que hace referencia a la planta no leñosa cuyas partes aéreas mueren después de fructificar.

hospedero (a): En una relación simbiótica, nombre que recibe el organismo que alberga a otro sin importar las consecuencias que este le puede ocasionar, ya sean positivas, negativas o neutras.

I

Incidencia: Cantidad de veces que un proceso, fenómeno o cosa se repite en una población o lugar determinado. En parasitología, número de veces que un organismo parasita a un hospedero.

L

Lectina: Proteína que se une fuertemente a un azúcar específico. La mayoría de este tipo de proteínas deriva de semillas vegetales siendo utilizadas como reactivos de afinidad para purificar glucoproteínas o para detectarlas sobre la superficie de las células.

leishmaniosis: (= leishmaniasis, leishmaniasis). Enfermedad parasitaria visceral, cutánea o mucocutánea causada por protozoos del género *Leishmania*, cuyo cuadro clínico depende de la especie involucrada. Este término es el que fue aceptado por la Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPD), para designar esta enfermedad.

lenticular: Adjetivo que se aplica a aquello que tiene forma discoidal o de lenteja.

leucocito: (= célula blanca). Célula especializada presente en muchos organismos la cual tiene como función la eliminación de aquellas células ajenas al organismo y que pueden ser potencialmente patógenas.

leucopenia: Descenso anormal del número de leucocitos en la sangre por debajo de sus niveles normales ($< 5\ 000/m^3$), que habitualmente se debe a causas farmacológicas o tóxicas.

lobópodo: Estructura lobular, más o menos amplia y redondeada o cilíndrica; típica de células ameboides y que frecuentemente tiene una zona hialina en la punta de avance.

Se origina por proyecciones del citoplasma y esta involucrado en la locomoción y la captura de alimento.

lumen: Cavidad o canal dentro de un órgano en forma de tubo; por ejemplo, un vaso sanguíneo o el intestino.

M

Metastación: Acción y efecto de metástasis. Proceso que involucra la localización, progresión y asentamiento de células malignas en otros tejidos distintos al que ocupa la lesión primaria. M. amebiana. Proceso que involucra la progresión de los trofozoítos hacia otros tejidos distintos al que se ocupa en la lesión primaria.

meteorismo: Acumulación excesiva de gases en el tubo digestivo, que normalmente son expulsados al exterior del organismo por el ano. Es una afección en la que el abdomen se siente lleno y apretado, y generalmente es causada por la presencia de gases en el intestino.

N

Nemátodo: (= gusano redondo). Organismo pluricelular perteneciente al grupo de los animales invertebrados de forma cilíndrica y de bordes terminados en punta.

núcleo: Orgánulo celular presente solo en células eucariontes en el cual se almacena y protege el ADN genómico de estos organismos, el cual puede ser de forma variada y estar rodeado de una membrana asociada a ribosomas.

O

Orbicular: De forma redonda o circular.

P

Parabasárido: En protozoología, organismo eucarionte unicelular presuntamente primitivo que presenta varios flagelos, ribosomas 70s, hidrogenosomas en lugar de

mitocondrias, con uno a varios núcleos y una estructura similar a los cuerpos de Golgi denominada aparato parabasal complejo. La gran mayoría de estos protozoos es su relación simbiote.

parásito: Nombre que recibe el organismo que establece una asociación con otro para obtener todo el beneficio de la misma.

parasitosis: Término con el cual se define la enfermedad ocasionada por la presencia de agentes parásitos.

patogenicidad: Adjetivo que se aplica a un agente generalmente biológico que tiene el potencial de ocasionar enfermedad en otro.

patógeno: Adjetivo que se aplica al organismo que ocasiona enfermedad en otro.

pedicelado: Que presenta pedicelo. Dícese del tallo que sostiene a una flor (caballo) en las inflorescencias. Cuando una flor nace solitaria el caballo que las sostiene se denomina pedúnculo.

perenne: Adjetivo que se aplica a cualquier cosa duradera. Permanente o que no muere. Ejemplo: hoja perenne.

perigonio: Envoltura externa de las flores donde no hay diferenciación entre los pétalos y sépalos, formada generalmente por un verticilo simple de hojas florales coloreadas denominadas tépalos.

pétalo: Cada uno de los apéndices de una flor que forman la corola, los cuales se ubican entre los sépalos y los estambres. Frecuentemente presentan colores brillantes que atraen a los polinizadores.

pinnatífido: Aplícase a cualquier órgano foliáceo cuando tiene el margen hendido de tal manera que las divisiones llegan a lo sumo hasta la mitad de la sección derecha o izquierda de una lamina foliar (hoja).

platelminto: (= platyhelminthes, gusano plano). Grupo de animales invertebrados tipo gusano de cuerpo plano no segmentado, parásitos en su mayoría y casi todos hermafroditas, varios de ellos parásitos. Ejemplo: *Taenia solium* (solitaria) y *Fasciola hepática* (duela del hígado).

prevalencia: Tiempo con la que un organismo puede permanecer en un algún lugar.

protozoo: (= protozoario). Organismo eucarionte unicelular, plasmodial o colonial, generalmente microscópico; heterótrofo o mixótrofo, que típicamente presenta mitocondrias tubulares o hidrogenosomas, cuerpos de Golgi y en algunos casos flagelos, estos de estructura flexible.

prurito: (= comezón). Sensación irritativa cutánea desagradable, local o generalizada que induce al acto de rascarse.

pseudópodo: (= seudópodo). Estructura de forma variada que se origina por la proyección del citoplasma y está involucrado en la locomoción y la captura de alimento en células ameboides. Frecuentemente tiene una zona hialina en la punta de avance.

pubescente: Dícese de cualquier órgano vegetal cubierto de pelo fino y suave.

Q

Quiste: Estructura de resistencia de forma muy variada que se presenta en muchos organismos, la cual se forma por la secreción celular de sustancias que forman una pared muy gruesa que permite sobrevivir a las condiciones adversas o desfavorables. Algunos autores la consideran como una forma biológica del organismo.

R

Reacción disulfiram: Reacción producida por la interacción de algunos fármacos inhibiendo la enzima dopamina-beta-hidroxilasa, lo que produce bloqueo en la conversión de dopamina a norepinefrina, que combinado con el efecto antagonista y/o anti-

recaptación de los estimulantes, puede causar un dramático aumento de los niveles de dopamina, dando como resultado insomnio, paranoia y en casos extremos psicosis. Originalmente la reacción secundaria se observó cuando interactuaba el Disulfiram con otros medicamentos, pero actualmente otros fármacos como el metronidazol pueden producir este efecto, sobre todo cuando se mezclan con etanol.

refractario: Que es capaz de producir desviación de la luz

reservorio: Organismo en que la naturaleza mantiene de manera natural a otro patógeno sin que este último le cause la enfermedad.

rotavirus: Tipo de virus perteneciente a la familia Reoviridae, de apariencia similar a una rueda, cuando se le visualiza por microscopía electrónica. Su genoma se compone de 11 segmentos de ARN de doble-hebra y son causantes de diarrea severa en infantes.

S

Sépalo: Cada una de las hojas modificadas más externas de una flor, generalmente verdes, que en conjunto componen el cáliz.

silicua: Fruto sincárpico, seco, dehiscente, generalmente con muchas semillas (polispermo), que se abre en dos valvas caedizas dejando un falso tabique. Su longitud es 3-4 veces más largo que ancho. Es el fruto típico de las Crucíferas (Brassicaceae).

simbiosis: Asociación que existe entre dos o más organismos, la cual puede ser benéfica, perjudicial o neutral para alguno de los involucrados. Existen tres tipos de simbiosis: el mutualismo, el comensalismo y el parasitismo.

sincárpico: Dícese de la flor, gineceo, etc., que tiene sus carpelos concrecentes en mayor o menor grado en un solo ovario.

T

Tetranucleado: Que contiene cuatro núcleos.

tricomonadido: En protozoología, organismo perteneciente al orden Trichomonadida del Phylum Parabasala (ver parabasálido) que típicamente presenta de cuatro a seis flagelos con estructuras flagelares no contráctiles. Ejemplo: *Trichomonas vaginalis*.

trofozoíto: Forma biológica que presentan muchos protozoos, generalmente parásitos la cual tiene metabolismo activo.

tromboflebitis: Es la inflamación de una vena por un coágulo de sangre dentro de la misma.

U

Utrículo: 1. Tipo de fruto seco y dehiscente generalmente de una sola semilla (monospermo) que es recubierto por un tejido (pericarpio) membranoso. Es el fruto típico de las ciperáceas. 2. Hoja floral modificada (bráctea) especial denominada proflora que se cierra sobre si misma. 3. Cualquiera de las pequeñas vesículas constituidas por hojas o segmentos foliares.

V

Vacuola: Estructura u orgánulo celular formado por evaginación o invaginación de las membranas celulares como el plasmalema y/o los orgánulos, que tiene como función el transporte de sustancias del exterior al interior y viceversa.

vermífugo: Sustancia capaz de ocasionar la expulsión los agentes biológicos denominados lombrices (nematodos y platelmintos) de un organismo.

virulencia: Capacidad que tiene un organismos de desarrollar alguna enfermedad en otro.

ANEXO

B

*Clasificación de
Cortiss (1994).*

A continuación se presenta la clasificación taxonómica que se siguió para ubicar los géneros y especies que se presentaron en esta disertación. Es importante decir que solo se menciona la descripción de los aspectos que caracterizan a las categorías superiores, tales como Reino (el cual concierne a todas las especies citadas en este trabajo), Phylum y Clase. Esta última incluye a todas las que se ubican dentro del Phylum para dar una idea más general sobre que otros organismos se agrupan dentro del mismo grupo; sin embargo, cabe mencionar que todo este apartado está muy sintetizado. En algunos casos se mencionan los órdenes por tratarse de los únicos (inclusive uno solo) pero no se hace una descripción fina de los caracteres y se limita a mencionar a los géneros que se incluyen en el mismo. Por su parte otros grupos incluyen ordenes muy numerosos por lo que solo se menciona en el texto. Para una consulta más extendida se sugiere consultar las obras que hacen referencia a esta clasificación como el artículo de Corliss (1994), quien publicó la misma, o bien, la obra de Aladro-Lubel (2006) que incluye la traducción de esta clasificación, así como otras que se han utilizado para agrupar a los protozoos, muchas de ellas de uso clásico y otras más recientes que siguen un arreglo similar propuesto al de Corliss; así mismo como las nuevas propuestas para un arreglo más filogenético y donde se mueven algunos grupos clásicos de protozoos a otros reinos.

IMPERIO EUKARYOTA

REINO II. PROTOZOA Goldfuss, 1818

Predominantemente unicelulares, plasmodiales o coloniales, fagotróficos, sin coloración, sin pared celular en el estado trófico. Las especies incluidas en este reino son capaces de llevar la fotosíntesis (algunos mixótofos), típicamente tienen cloroplastos citosólico, con tilacoides apilados, carecen de almidón y en general están rodeados de tres membranas. Con muy pocas notables excepciones, presentan mitocondrias tubulares (cuando ausentes son sustituidas por hidrogenosomas), cuerpos de Golgi y peroxisomas. Si están presentes, los mastigonemas flagelares nunca son rígidos y tubulares. Un gran número de especies de vida libre (típicamente con movimiento independiente) y simbióticas; comúnmente microscópicas. Los supuestos progenitores de los reinos Chromista, Plantae,

Fungi y Animalia, los protozoos exhiben la mayor diversidad biológica y genética. Este ensamble de organismos, aún es muy grande y muy probablemente parafilético.

PHYLUM 2. PARABASALA Honigberg, 1973

Flagelados unicelulares, casi exclusivamente simbioses, con el sistema mastigonte típicamente con flagelos múltiples y con uno o varios núcleos; con ribosomas 70s sin mitocondrias pero con hidrogenosomas en una envoltura doble; característico el aparato del cuerpo parabasal (=cuerpo de Golgi). Se encuentran en una gran diversidad de hospederos, incluyendo al hombre, pero muchas especies en termitas y cucarachas xilófagas. Algunos autores incluyen a este phylum en el reino Archaezoa.

CLASE 1. Trichomonadea Kirby, 1947

Típicamente con cuatro a seis flagelos; la pelta y el axostilo no contráctil como parte de cada mastigonte (una sola excepción); en un género la forma trófica es permanentemente ameboide sin flagelo (*Dientamoeba* spp).

ORDEN Trichomonadida Kirby, 1947

Bullanympa, Calonympha, Descovina, Dientamoeba,
Ditrichomonas, Hexamastix, Histomonas, Monocercomonas,
Pseudotrichomonas, Snyderella, Trichomonas.

CLASE 2. Hypermastigotea Gras y Foà 1911

Sistema mastigonte con numerosos flagelos y múltiples cuerpos de Golgi; los cuerpos basales de los flagelos frecuentemente están arreglados en hileras longitudinales y espirales muy apretadas; un solo núcleo.

ORDEN 1. Lophomonadida Light, 1927

Joenia, Lophomonas, Mesojoenia, Microjoenia

ORDEN 2. Trichonymphida Poche, 1913

Barbulanympha, Deltotrichonympha, Holomastigoides,
Haplonympha, Kofoidia, Macrospironympha, Spirotrichonympha,
Teranympha, Trichonympha.

PHYLUM 10. RHIZOPODA Von Siebold, 1845

No presentan flagelos (excepto los gametos de la clase 4) fagótrofos unicelulares o plasmodiales carentes de esporangios aéreos; típicamente los pseudópodos sirven tanto para la alimentación como para la locomoción; todos son formas no fotosintéticas, excepto los grupos con algas endosimbióticas; cuerpos de Golgi y mitocondrias (generalmente con crestas tubulares) siempre presentes, excepto en la clase 2 en donde la ausencia de mitocondrias se considera como secundaria; especies típicamente uninucleadas (algunas excepciones) y de vida libre (excepto la totalidad de las formas endosimbióticas de la pequeña clase 2 y unas cuantas especies más). Clásicamente éste phylum y los phyla 11 (Heliozoa) y 12 (Radiozoa), se combinaban como en el súper-taxón “Sarcodina”.

CLASE 1. Lobosea Carpenter, 1861

Los pseudopodos son lobopodos o un tanto filiformes; el cuerpo frecuentemente desnudo, pero también algunos presentan testas (compuestas de materiales orgánicos y/o inorgánicos, con una sola abertura). Predominantemente son formas de vida libre, en el suelo, el agua dulce o marina y ampliamente distribuidos. Dos subclases y varios ordenes; pero la clase puede ser un ensamble polifilético. Los géneros *Copromyxa* y *Guttulinopsis* (y algunos otros micetozoos son difíciles de asignar) podrían pertenecer aquí, así como el desconcertante simbiote *Blastocystis* y *Luffisphaera* el curioso apseudopodial. Algunos géneros de esta clase son:

*Acanthamoeba**, *Amoeba*, *Arcella*, *Balamuthia**, *Cashia*, *Centropyxis*, *Chaos*,
Cochlipodium, *Cucurbitella*, *Diffugia*, *Flabellula*, *Hartmannella**,
Hydramoeba, *Leptomyxa*, *Lesquereusia*, *Mayorella*, *Nebela*, *Netzelia*,
Paramoeba, *Platyamoeba*, *Rosculus*, *Sachamoeba*, *Stereomyxa*,
Thecamoeba, *Trichamoeba*, *Trichosphaerium*, *Vanella*, *Vexillifera*.

CLASE 2. Entamoebidea Cavalier-Smith, 1991

Con pseudópodos lobópodos, un solo núcleo, pero carecen totalmente de mitocondrias, peroxisomas e hidrogenosomas, si tienen cuerpos de Golgi son pequeños; no tienen flagelos; el centrosoma intranuclear presente sólo durante la fase mitótica. Algunos autores han sugerido que este grupo de amebas simbióticas al parecer primitivas deberían mejor pertenecer al reino Archaezoa. No es muy claro si los géneros supuestamente relacionados con *Entamoeba* (ej. *Endamoeba*, *Endolimax*, *Iodamoeba*) deberían ser asignados aquí o a la clase 1. *Dientamoeba* por mucho tiempo colocado en la familia *Entamoebidae* actualmente se sabe que es un miembro no flagelado del phylum Parabasala. Un orden y una familia. Géneros incluidos en la clase:

Entamoeba y supuestamente *Endamoeba*, *Endolimax*, *Iodamoeba*.

CLASE 3. Filosea Leydi, 1879

Formas hialinas con pseudópodos filiformes, algunas veces ramificados y ocasionalmente anastomosados; algunas especies desnudas y muchas más con testas en forma de botella. Varios órdenes. Algunos géneros incluidos son:

Amphorepllopsi, *Centropxyiella*, *Chardezia*, *Chlamydophrys*, *Cyphoderia*,
Euglypha, *Gromia*, *Lateromyxa*, *Nuclearia*, *Ogdeniella*, *Paulinella*, *Penardia*,
Pseudodiffugia, *Sphenoderia*, *Trinema*, *Vampyrella*.

* Géneros con especies de vida libre potencialmente patógenas para el humano

CLASE 4. Granuloreticulosea de Saedeleer, 1934

Con pseudipodos granulares, delicados, formando redes anastomosadas; pocas especies desnudas, otras en una testa de una cámara orgánica o calcárea sin alternancia de generaciones, pero la gran mayoría en testas (orgánicas, aglutinadas o calcáreas) de una a muchas cámaras, con reticulopodos que salen de aberturas y/o perforaciones de la pared de la testa y con alternancia de generaciones, haploide sexual y diploide asexual; los gametos conocidos son uni-biflagelados o ameboides; formas uninucleadas o multinucleadas, con generación asexual en algunos grupos que poseen núcleo dimórfico –uno o más núcleos somáticos más grandes y generalmente numerosos núcleos generativos pequeños, condición heterocariótica reminiscente de aquella de los ciliados-; especies fagotróficas (aunque algunas con algas endosimbióticas) y prácticamente todas marinas y bentónicas; se han descrito más géneros fósiles que contemporáneos; la clase esta compuesta esencialmente por los foraminíferos (Foraminífera d' Orbigny, 1826), adicionalmente, se incluyen órdenes por separado, los cuales son dudosamente distintos, orden Athalamida Haeckel, 1862 (ej. *Arachnula* y *Biomyxa*) y Monothalamida Haeckel, 1862 (*Amphitrema*, *lieberkuerhnia*, *Microgromia*). Varios órdenes, numerosas familias y muchos cientos de géneros (algunos con pocas especies vivientes, lista de abajo) de foraminíferos. Se duda si *Komokia* aún pertenece aquí.

Allogromia, Ammodiscus, Ammonia, Boderia, Bolivina, Carterina, Discorbis, Elphidium, Glabratella, Globigenirella, Guttulina, Hastigerina, Heterotheca, Iridia, Metarotaliella, Microglabratella, Myxotheca, Nonion, Ovamina, Patellinella, Planorbulina, Polystomella, Quinqueloculina, Rhizammina, Rosalina, Rotaliella, Sacamina, Schwagerina, Selenita, Sorites, Spirillina, Spiroloculina, Textularia, Triloculina, Uvigerina.

CLASE 5. Xenophyophorea Schulze, 1904

Protistas relativamente grandes (más de 25cm de diámetro, aunque sólo cerca de 1mm de grosor) pero poco estudiados, marinos y bentónicos, con estado plasmodial multinucleado, encerrado en un sistema ramificado tubular que a su vez, esta dentro de una testa aglutinada; se presume que tienen pseudópodos filiformes o reticulados y con gametos biflagelados. Aproximadamente se han descrito 36 especies de una docena de géneros; el rango exacto del taxón, así como la colocación entre otros protistas, aún permanece incierta. Géneros:

Galatheamina, Psammetta, Stannophyllum.

ANEXO

C

*Nomenclatura de
las Protozoosis* ♦ .

* De acuerdo a la Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPD).

Nomenclatura de las enfermedades parasitarias causadas por protozoos (protozoosis).

Agente etiológico	Denominación actual (Según SNOAPD)	Denominación anterior	Nombre común
<i>Acanthamoeba</i> spp.	Acanthamoebosis	Amibas de vida libre Queratitis GAP	–
<i>Babesia</i> sp.	Babesiosis	Babesiasis	–
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiosis	Balantidiasis	–
<i>Cryptosporidium</i> sp.	Cryptosporidiosis	Criptosporidiosis	–
<i>Entamoeba histolytica</i>	Entamoebosis	Amibiasis	Disentería amibiana, amibas, amibiasis
<i>Giardia intestinalis</i>	Giardiosis	Giardiasis	Diarrea del caminante
<i>Hartmannella</i> sp.	Hartmannellosis	Amibas de vida libre MEAP	–
<i>Isospora</i> sp.	Isosporiosis	Isosporosis	–
<i>Leishmania</i> spp.	Leishmaniosis	Leishmaniasis	Úlcera del chiclero
<i>Plasmodium</i> spp.	Plasmodiosis Malaria	Malaria	Paludismo, malaria
<i>Naegleria fowleri</i>	Naegleriosis	Amibas de vida libre MEAP	–
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosis	Toxoplasmosis	Enfermedad del gato
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Trichomonosis	Tricomoniasis	–
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Trypanosomosis	Tripanosomiasis americana.	Enfermedad de Chagas
<i>T. brucei</i>		Tripanosomiasis africana	Enfermedad del sueño

GAP, Granulomatosis amibiana; MEAP, meningoencefalitis amibiana primaria. (Modificado de Tay *et al.*, 2002)

ANEXO

D

*Medio de
Cultivo.*

Medio de cultivo TYI-S-33 para *Entamoeba histolytica*

Biosate (Peptona biotriptasa).....	30.00 g
Dextrosa (C ₆ H ₁₂ O ₆).....	10.00 g
Fosfato de potasio dibásico G. A. (K ₂ HPO ₄).....	1.31 g
Fosfato de potasio monobásico G. A. (KH ₂ PO ₄).....	0.60 g
Cloruro de sodio (NaCl).....	2.00 g
Cisteína.....	1.00 g
Ácido ascórbico (C ₆ H ₈ O ₆).....	0.20 g
Citrato de amonio férrico 22.5mg disuelto en 270 ml de agua bidestilada	
Mezcla multivitamínica.....	3.00 %
Suero de bovino adulto.....	10.00 %
Agua destilada Aforar hasta 1000mL	

Recomendaciones:

1.- Mezclar los reactivos hasta obtener una mezcla homogénea de coloración ámbar cristalina. Este medio se puede almacenar hasta un mes en refrigeración (4° C) y se puede congelar para su uso posterior hasta por 3 meses.

2.- También es muy importante su preparación en condiciones estériles ya que puede ser fácilmente contaminado por bacterias debido a que no lleva ningún antibiótico que evite su proliferación.

ANEXO

E

*Solución de fosfatos
salina.*

Solución de fosfatos salina PBS-A

Stock de fosfatos:

Fosfato de sodio dibásico ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$).....	0.15 M
Fosfato de sodio monobásico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$).....	0.15 M
pH.....	7.2

Recomendaciones:

- 1.- De este stock tomar 100 ml y agregar 900 ml de agua destilada, finalmente agregar cloruro de sodio (NaCl) 0.2M.
- 2.- La solución de fosfatos salina es útil para lavar células en cultivo y prolongar su vida hasta por cuatro horas en condiciones fuera del medio de cultivo. De esta forma también se evita que mueran las células antes de su impregnación con algún colorante para verificar su viabilidad.

ANEXO

F

*Pruebas
Estadísticas.*

Efecto	G.L Efecto	C.M. Efecto	G. L Error	C. M. Error	Fc	N.S.
1	2	4157.146	1437	1225.805	3.391359	0.033933

Cuadro F1. Análisis de Varianza donde se muestra el tipo e planta estudiada contra la sobrevivencia de trofozoítos de *Entamoeba histolytica*. (N.S. < 0.05).

Efecto	G.L Efecto	C.M. Efecto	G. L Error	C. M. Error	Fc	N.S.
1	3	12099.27	476	1362.203	8.882134	0.000010

Cuadro F2. Análisis de Varianza del efecto del solvente contra sobrevivencia de los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* en extractos de *Chenopodium ambrosioides*. (N.S. < 0.05).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95 %

Extracto	Promedio	Grupos homogéneos	
		1	2
MeOH	59.15833	X	
DCM	60.14167	X	
Hex	67.31667	X	
Ac	80.92500		X

Cuadro F3. Análisis de rango múltiple para los diferentes extractos de *Chenopodium ambrosioides*. $\alpha=0.05$.

Efecto	G.L Efecto	C.M. Efecto	G. L Error	C. M. Error	Fc	N.S.
1	4	155096.5	475	135.4124	1145.863	0.000010

Cuadro F4. Análisis de Varianza del efecto del tratamiento contra sobrevivencia de trozoítos de *Entamoeba histolytica* en extractos de *Chenopodium ambrosioides*. (N.S. < 0.05).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95 %

Concentración	Promedio	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
150 µg/ml	21.7708	X			
100 µg/ml	37.4792		X		
50 µg/ml	58.0000			X	
Control	107.0000				X
Blanco	110.1771				X

Cuadro F5. Análisis de rango múltiple para los diferentes tratamientos en el porcentaje de sobrevivencia de los trozoitos de *Entamoeba histolytica* para los extractos de *Chenopodium ambrosioides*. $\alpha=0.05$.

Efecto	G.L Efecto	C.M. Efecto	G. L Error	C. M. Error	Fc	N.S.
1	3	5288.903	476	828.7000	6.382168	0.000302

Cuadro F6. Análisis de Varianza del efecto del solvente contra la sobrevivencia de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* con extractos de *Lepidium virginicum*. (N.S. < 0.05).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95 %

Extracto	Promedio	Grupos homogéneos	
		1	2
Ac	63.61666	X	
DCM	72.55833	X	X
Hex	74.16666		X
MeOH	79.60833		X

Cuadro F7: Análisis de rango múltiple para los diferentes extractos de *Lepidium virginicum*. $\alpha=0.05$.

Efecto	G.L Efecto	C.M. Efecto	G. L Error	C. M. Error	Fc	N.S.
1	4	91270.63	475	95.25346	958.1870	0.000010

Cuadro F8. Análisis de Varianza del efecto del tratamiento contra la sobrevivencia de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* en extractos de *Lepidium virginicum*. (N.S. < 0.05).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95 %

Concentración	Promedio	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
150 µg/ml	35.8958	X			
100 µg/ml	51.2917		X		
50 µg/ml	67.3021			X	
Control	102.3854				X
Blanco	105.5625				X

Cuadro F9. Análisis de rango múltiple para los diferentes tratamientos en el porcentaje de sobrevivencia de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* para *Lepidium virginicum*. $\alpha=0.05$.

Efecto	G.L Efecto	C.M. Efecto	G. L Error	C. M. Error	Fc	N.S.
1	3	5420.208	476	1365.939	3.968117	0.008213

Cuadro F10. Análisis de Varianza del efecto del solvente contra la sobrevivencia de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* con extractos de *Castela erecta texana*. (N.S. < 0.05).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95 %

Extracto	Promedio	Grupos homogéneos	
		1	2
MeOH	60.41667	X	
Hex	65.29166	X	X
Ac	70.88333	X	X
DCM	75.90000		X

Cuadro F11: Análisis de rango múltiple para los diferentes extractos de *Castela erecta texana*. $\alpha=0.05$.

Efecto	G.L Efecto	C.M. Efecto	G. L Error	C. M. Error	Fc	N.S.
1	4	106802.8	475	502.6563	212.0548	0.000010

Cuadro F12. Análisis de Varianza del efecto del tratamiento contra la sobrevivencia de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* en extractos de *Castela erecta texana*. (N.S. < 0.05).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95 %

Concentración	Promedio	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
150 µg/ml	29.8229	X			
100 µg/ml	42.6146		X		
50 µg/ml	63.9583			X	
Control	100.5208				X
Blanco	103.6979				X

Cuadro F13. Análisis de rango múltiple para los diferentes tratamientos en el porcentaje de sobrevivencia de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* para *Castela erecta texana*. $\alpha=0.05$.