



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
BIOQUÍMICA CLÍNICA

Evaluación de la toxicidad subaguda y efecto hipoglucemiante
del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* en un modelo de
ratones CD1

T E S I S

Que para obtener el título de
Químico Farmacéutico Biólogo

P R E S E N T A

Vargas Ángeles Carlos Adrian

Director: Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara

Asesor: Dr. Rubén Marroquín Segura

Laboratorio 1 Primer Piso de la Unidad Multidisciplinaria de
Investigación Experimental Zaragoza

Este trabajo recibió apoyo del proyecto PAPIIT IG300315

CDMX 2016





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.

El motor de la ciencia es la curiosidad con las preguntas constantes: ¿Y eso cómo es? ¿En qué consiste? ¿Cómo funciona? Y lo más fascinante es que cada respuesta trae consigo nuevas preguntas. En eso los científicos le llevamos ventajas a los exploradores, cuando creemos haber llegado a la meta anhelada, nos damos cuenta de que lo más interesante es que hemos planteado nuevos problemas para explorar.

César Milstein

Preguntarte nunca dejar debes

El agradecimiento de esta tesis se divide en siete partes:

Para la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por ser mi segunda casa, de la que me siento orgulloso de pertenecer, le agradezco me diera la oportunidad de aprender en sus instalaciones y por ayudarme en mi formación personal y profesional.

Para mis padres por haberme permitido existir, por el apoyo y compañía que siempre me brindaron; porque sé que sin ellos muchas cosas no las hubiera logrado, por lo que mi esfuerzo y dedicación se los debo a ellos.

Para una persona que es parte importante de mi vida en este momento, a mi novia y amiga incondicional Daritza, gracias por el apoyo que me brindaste a lo largo de estos años, por estar junto a mi toda la carrera y durante la realización de este trabajo.

Para el Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara y para el Dr. Rubén Marroquín Segura por darme la oportunidad de trabajar con ellos, por todas las enseñanzas que me dejan tras mi estancia en el laboratorio y por su apoyo en el inicio y culminación de este proyecto.

Para mis sinodales el mtro. Valentin Islas Perez, al QFB Arturo Valle Mendiola, y sobre todo a la mtra. Yolanda Flores Cabrera por su apoyo, sus consejos y por su participación para que este proyecto fuera lo mejor posible.

Para mis amigos Karloz, Linda, Blanca, Ruth, Iris, Bárbara y todos aquellos que han formado parte de mi vida, por lo que ya no están y por los que siguen, por su apoyo, por todos los momentos divertidos y estresantes que vivimos durante la carrera. A mis compañeros del Laboratorio 1 PA de la UMIEZ por hacer mi estancia en el laboratorio divertida y agradable.

Y para los ratones usados para realizar este proyecto, gracias por todo, definitivamente sin ustedes esto no sería posible.

TABLA DE CONTENIDO

1	Introducción	1
2	Marco teórico	2
2.1	Plantas medicinales	2
2.1.2	Metabolismo de las plantas	2
2.1.2.1	Metabolismo primario de las plantas	2
2.1.2.2	Metabolismo secundario de las plantas	2
2.1.3	Extractos de plantas	4
2.1.4	Principales métodos de extracción.	5
2.1.5	Principio activo en plantas	7
2.1.6	Farmacognosia	8
2.1.7	Familia Asteraceae	9
2.1.7.1	Montanoa tomentosa (Zoapatle)	9
2.1.8	Lactonas sesquiterpenicas	12
2.2	Modelo experimental	13
2.2.1	Animales de laboratorio	13
2.2.2	Modelos y características	13
2.2.3	Ratón de laboratorio	14
2.3	Estudio de toxicidad	15
2.3.1	Toxicología y farmacología	15
2.3.1.1	Toxicidad aguda	16
2.3.1.2	Toxicidad subaguda	17
2.3.1.3	Toxicidad crónica	18
2.3.2	Perfil renal	19
2.3.2.1	Riñón	19
2.3.2.1.1	Urea	19
2.3.2.1.2	Creatinina/Creatina	19
2.3.2.1.3	Ácido úrico	20
2.3.2.1.4	BUN-Nitrógeno ureico en sangre	21
2.3.3	Perfil hepático	21
2.3.3.1	Hígado	21
2.3.3.1.1	Transaminasas	21
2.3.3.1.2	AST	22
2.3.3.1.3	ALT	22
2.4	Antimicrobianos	23
2.4.1	Antisépticos y desinfectantes	23
2.4.2	Cualidades de los antisépticos	23
2.4.2.1	Alcoholes	24
2.4.2.2	Agentes oxidantes	25
2.4.2.3	Halógenos	25
2.4.2.4	Compuestos fenólicos	25
2.4.2.5	Compuestos de amonio cuaternario	25

2.4.2.6	Derivados mercuriales _____	26
2.4.3	Antibióticos _____	26
2.4.3.1	Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular _____	28
2.4.3.2	Antibióticos que dañan la membrana citoplásmica _____	28
2.4.3.3	Antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos _____	28
2.4.3.4	Antibióticos que inhiben la función ribosomal _____	29
2.4.3.5	Antibióticos del grupo antimetabolitos _____	30
2.4.3.6	Antibióticos inhibidores de betalactamasas _____	30
2.4.3.7	Antibióticos antifímicos _____	31
2.4.3.7.1	Resistencia a los antimicrobianos e integrones _____	31
2.4.4	Antimicóticos _____	32
2.4.4.1	Antifúngicos que actúan sobre la membrana citoplasmática _____	32
2.4.4.2	Antifúngicos que actúan sobre la pared de las células fúngicas _____	33
2.4.4.3	Antifúngicos que actúan sobre el núcleo de la célula _____	33
2.4.5	Métodos para la detección de la sensibilidad a antimicrobianos _____	34
2.4.5.1	Prueba de sensibilidad por difusión con discos _____	34
2.4.6	Plantas con actividad antimicrobiana _____	35
2.4.7	Breve descripción de los microorganismos usados _____	36
2.4.7.1	Bacterias _____	36
2.4.7.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i> _____	37
2.4.7.1.2	<i>Escherichia coli</i> _____	37
2.4.7.2	Hongos _____	37
2.4.7.2.1	<i>Cándida albicans</i> _____	38
2.5	Diabetes mellitus _____	38
2.5.1	Clasificación _____	39
2.5.1.1	Diabetes tipo 1 _____	39
2.5.1.2	Diabetes tipo 2 _____	39
2.5.2	Diagnóstico _____	40
2.5.3	Resistencia a la insulina _____	41
2.5.4	Páncreas _____	41
2.5.5	Insulina _____	42
2.5.5.1	Síntesis y metabolismo _____	42
2.5.5.2	Mecanismo de acción _____	43
2.5.6	Tratamiento _____	43
2.5.7	Tratamiento oral de la DM _____	44
2.5.7.1	Estimulantes de la secreción de insulina _____	44
2.5.7.1.1	Sulfonilureas _____	44
2.5.7.1.1.1	Glibenclamida _____	44
2.5.7.1.1.2	Tolbutamida _____	44
2.5.7.2	Metaglitinidas _____	45
2.5.7.3	Disminuyen la resistencia a la insulina _____	45
2.5.7.3.1	Biguanidas _____	45
2.5.7.3.2	Glitazonas _____	45
2.5.7.4	Inhibidores de α -glucosidasas _____	45
2.5.7.5	Tiazolidinediona _____	46

2.5.7.6	Inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (incretinas)	46
2.5.8	Tratamiento parenteral de la DM	46
2.5.8.1	Agonista del péptido 1 similar al glucagón (exentado)	46
2.5.8.2	Agonistas de la amilina (pramLintida)	46
2.5.9	Plantas hipogluceмиantes	47
3	Planteamiento del problema	48
4	Hipótesis	48
5	Objetivos	48
5.1	General	48
5.2	Específicos	48
6	Material y método	49
6.1	Tipo de estudio	49
6.2	Universo de estudio	49
6.3	Criterios de inclusión	49
6.4	Criterios de exclusión	49
6.5	Criterios de eliminación	49
6.6	Variables independientes	49
6.7	Variables dependientes	50
6.8	Material	50
6.9	Método	51
6.9.1	Preparación del extracto	51
6.9.2	Preparación de reactivos para ensayo hipogluceмиante	51
6.9.3	Ensayo hipogluceмиante	52
6.9.4	Ensayo de toxicidad sub aguda	53
6.9.5	Prueba de actividad antibacteriana y antimicótica	54
7	Resultados	56
8	Análisis de resultados	70
9	Conclusión	75
10	Propuestas	76
11	REFERENCIAS	77

El uso de plantas con fines terapéuticos se remonta al principio de la historia de la humanidad. El hombre recurría a la naturaleza en busca de su alimento y de su salud. Por medio de aciertos y errores aprendió a conocer las plantas que lo sanaban; este conocimiento se transmitió de generación en generación y fue incrementando con la experiencia.^[1]

Hoy la medicina se vale de drogas sintéticas para aliviar diversas enfermedades. Muchas de estas drogas son benéficas, pero también muchas por mal uso o abuso, han perdido su eficacia y en incontables casos han provocado efectos secundarios nocivos.

El conocimiento de las plantas medicinales y la medicina tradicional ha recuperado un lugar importante en los países desarrollados y, sobre todo, en los países en vías de desarrollo como una buena alternativa para la cura de enfermedades y ante el uso de medicamentos convencionales u oficinales en la atención primaria de salud.^[2]

En México las plantas medicinales constituyen uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como suburbano, donde los servicios de atención médica son escasos, acentuándose en las poblaciones más alejadas de las cabeceras municipales y de los centros urbanos.

En el país, los terapeutas tradicionales representan la única alternativa médica para más de 40 millones de mexicanos que no tienen acceso a los diferentes centros de salud. Los terapeutas tradicionales en México son los depositarios de esta información y cuentan con la absoluta confianza de la población, dado que existe una íntima relación con los pacientes. Es innegable los siglos de uso empírico que avalan en la mayoría de los casos, los recursos vegetales utilizados como medicinales.^[3]



2.1 Plantas medicinales

La herbolaria es la práctica terapéutica que utiliza plantas medicinales, ya que estas aun constituyen el recurso más conocido y accesible para gran parte de la población mexicana. La organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional como prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales o de origen microbiano.⁴

Siendo así una planta medicinal cualquier especie vegetal que contenga en uno de sus órganos, o en toda la planta, los principios activos que se pueden utilizar con fines terapéuticos o que se puedan usar como precursores para obtener nuevos fármacos por síntesis parcial^[5]

2.1.2 *Metabolismo de las plantas*

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que las moléculas experimentan. Estas reacciones, en su conjunto, no constituyen sólo un fenómeno más dentro de lo que puede caracterizar a un ser vivo, sino que son la condición necesaria y suficiente para que se pueda decir que está vivo. De forma general el metabolismo se divide en metabolismo primario y secundario, generando metabolitos primarios y secundarios.

2.1.2.1 *Metabolismo primario de las plantas*

Los metabolitos primarios son aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas y que desempeñan las mismas funciones. La mayor parte del carbono, nitrógeno y energía termina en moléculas comunes en todas las células, donde son necesarios para su funcionamiento.

2.1.2.2 *Metabolismo secundario de las plantas*

Los metabolitos secundarios en plantas son compuestos de bajo peso molecular que las plantas sintetizan destinando una cantidad significativa del carbono asimilado y de energía para la formación de una amplia variedad de moléculas



orgánicas que no parecen tener una función directa en los procesos fotosintéticos, respiratorios, de asimilación de nutrientes, transporte de solutos, síntesis de proteínas carbohidratos o lípidos.

Difieren de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a especies. ^[6]

La química del metabolismo secundario es diferente de una planta a otra, pues precursores químicos comunes pueden conducir a resultados totalmente diferentes. ^[7]

Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas, participando en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como es el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y como atrayente o repelente de animales. Otros se identifican en los pigmentos que proporcionan color a las flores o frutos, juegan un papel esencial en la reproducción, al atraer insectos polinizadores, a los animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento para contribuir de esta forma a la dispersión de semillas.

Otros compuestos tienen función protectora al ser consumidos por herbívoros, actúan como repelentes, proporcionan a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes microorganismos patógenos: actúan como pesticidas naturales, incluso, una síntesis activa de metabolitos secundarios se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como competencia por el espacio de suelo, luz o nutrientes. ^[6]

Es importante destacar que también reciben la denominación de productos naturales y tienen un importante valor medicinal y económico, derivado este último



de su uso en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica. Un gran número de estos productos naturales que ya se usaban en la medicina antigua como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromas, colorante, etc. [6]

Actualmente se conocen aproximadamente 20,000 estructuras de metabolitos secundarios que por su composición química son clasificados en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Los que tienen nitrógeno incluyen a los alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminas, glucósidos cianógenos y glucosinolatos. Los metabolitos secundarios no nitrogenados se dividen en terpenoides, poli acetilenos, policetidos y fenilporpanoides.

La variedad estructural dentro de un mismo grupo de metabolitos secundarios se da por modificaciones químicas a una estructura básica, originadas por reacciones químicas, tales como la hidroxilación, metilación, epoxidación, malnilación, esterificación y la glucosilación. Esta variedad ocasiona perfiles metabólicos diferentes entre especies, entre los miembros de una población y entre los diferentes órganos de la planta, la cual es parte de su estrategia de adaptación.

Los precursores de la biosíntesis de metabolitos secundarios se derivan de rutas de metabolismo primario, tales como la glucólisis, el ciclo de Krebs o la vía del Shikimato. Una síntesis constitutiva y específica de metabolitos secundarios puede existir para cada tipo de órgano, tejido o tipo celular. Existen también metabolitos secundarios que se sintetizan en todos los órganos y tejidos de la planta, pero que se almacenan en órganos o tejidos diferentes a los de su síntesis. [8]

2.1.3 *Extractos de plantas*

En general, se denomina extracción sólido-líquido al procedimiento consistente en poner en contacto un sólido triturado con un líquido en el que son solubles algunas de las sustancias que lo componen.

Los extractos son fundamentales para aquellas plantas medicinales que no contienen aceites esenciales, pero si otros compuestos activos con variadas propiedades. También para plantas cuya pequeña concentración de aceite esencial ofrece un rendimiento muy bajo en la destilación.



La extracción de vegetales y plantas aromáticas o medicinales es una práctica común a escala doméstica e industrial, existiendo gran cantidad de procedimientos. [6,7]

2.1.4 Principales métodos de extracción.

Se realiza un proceso extractivo para obtener el extracto vegetal directamente a partir de la planta. Hay varios métodos de extracción (imagen 1).

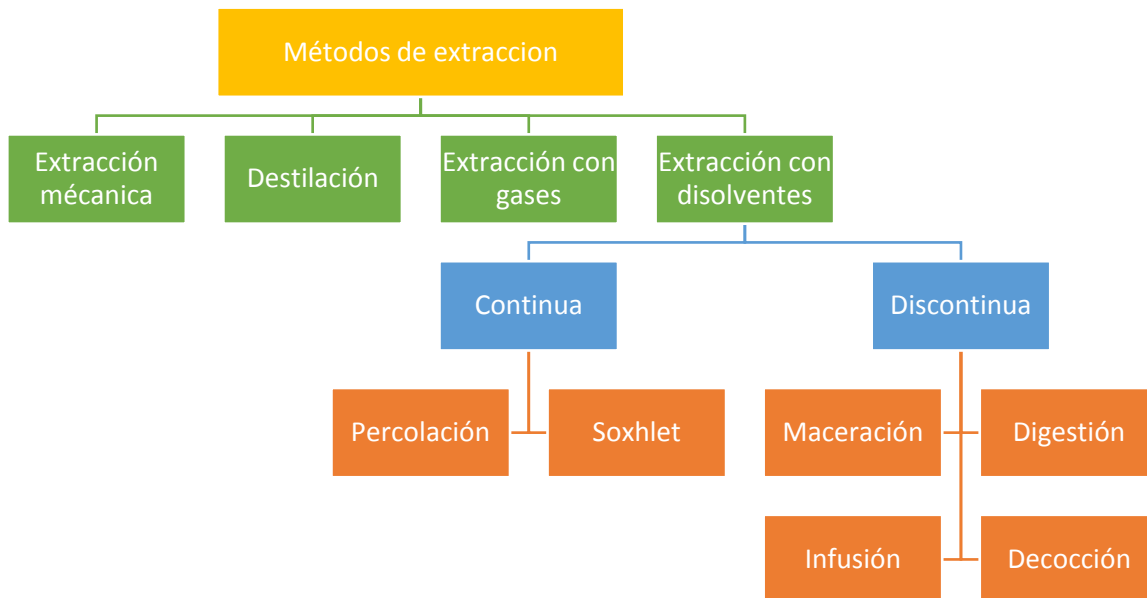


Imagen 1 Métodos de extracción

- Extracción mecánica: Es una técnica que permite obtener los metabolitos secundarios disueltos en los fluidos de la propia planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo.
- Destilación: Se basa en la diferente volatilidad de los componentes de la droga, lo cual permite la separación de componentes volátiles de otros que son menos o nada volátiles. Se suelen hacer destilaciones por arrastre de vapor o por hidrodestilaciones que facilitan la extracción de principios activos volátiles. La destilación permite obtener, por ejemplo, las esencias de las drogas. Es un método en el que se utiliza una fuente de calor, por lo que sólo es aplicable a principios activos termoestables.



- Extracción con gases: Se usa presión y temperatura superior a la presión y temperatura crítica. Los gases que más se utilizan son el dióxido de carbono y el butano, la extracción con gases es muy selectiva y es sencillo eliminar el gas extractor, pero también es costosa y difícil de encontrar las condiciones óptimas de presión y temperatura.
- Disolventes: Consiste en poner en contacto la planta con un disolvente capaz de solubilizar los principios activos. Estos principios deben pasar de la planta al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido. Posteriormente dicho extracto se puede encontrar eluyendo mayor o menor cantidad de disolvente. La extracción con disolventes es uno de los métodos que más se emplea.
- Extracción discontinua: Se sumerge la planta en el disolvente, por lo que la totalidad de la planta está en contacto con el disolvente utilizado para la extracción y la difusión de los metabolitos secundarios se producirá en todas direcciones hasta alcanzar el equilibrio.

Se conocen diferentes métodos de extracción discontinua:

1. Maceración: consiste en poner en contacto la planta seca con el disolvente utilizado para la extracción a temperatura ambiente, manteniendo todo en agitación durante un tiempo determinado que depende de las características de la planta y de la naturaleza de los principios activos. Se utiliza generalmente agua, glicerina o mezclas hidroalcohólicas. A continuación, se decanta obteniendo el extracto líquido con los metabolitos secundarios y por otra un residuo de la planta denominado marco. Para mejorar el rendimiento de la extracción es habitual volver a realizar otra extracción con el marco. La maceración se utiliza cuando los metabolitos secundarios son muy solubles y la estructura de la planta es muy permeable al disolvente.



2. Digestión: Es un método extractivo en el que se trabajó a temperaturas muy elevadas.
3. Infusión: se trabaja con un disolvente, generalmente agua, a temperatura próxima a la ebullición, en el que se introduce la planta que se quiere extraer y a continuación se deja enfriar el conjunto hasta temperatura ambiente.
4. Decocción: Se pone en conjunto la planta con el disolvente y se lleva a ebullición, manteniendo dicha ebullición durante 15 a 30 minutos, una vez enfriado, se filtra y se exprime el residuo.

Para que se lleve a cabo correctamente la extracción con disolventes se debe tener en cuenta diversos factores como:

- Características de la planta: se debe trabajar con plantas desecadas y con un grado de división adecuado para facilitar el máximo contacto entre los metabolitos secundarios y el disolvente.
- Naturaleza del disolvente: Principalmente se utilizan en las extracciones de agua o mezcla hidroalcohólicas en porciones variables. También es posible utilizar otros disolventes orgánicos como acetona o éter etílico. El agua es un buen disolvente de muchos metabolitos secundarios de las plantas, pero por esta misma razón resulta generalmente poco selectivo.
- Temperatura: el aumento de la temperatura favorece la extracción de los metabolitos secundarios porque aumenta la solubilidad, pero a su vez, puede favorecer la degradación de dichos metabolitos secundarios, por ello es necesario controlarla. ^[9,10]

2.1.5 Principio activo en plantas

Son moléculas que, producidas por el metabolismo de un organismo vegetal, se encuentran dotadas de una actividad farmacológica puntual y que genera en el organismo modificaciones en una o más de sus células, y que pueden ser empleadas en la terapéutica.



Depende de la ruta metabólica la obtención de una sustancia simple o compleja.

La investigación científica ha permitido descubrir una variedad de principios activos, de los cuales los más importantes desde el punto de vista de la salud, son los aceites esenciales, los alcaloides, los glucósidos, los mucilagos, las gomas y los taninos. Estos principios activos poseen estructuras químicas que los diferencian unos de otros. ^[11]

2.1.6 Farmacognosia

La farmacognosia estudia los principios activos de origen natural que puede poseer un potencial terapéutico o aplicación en la industria. Por lo tanto, son de importancia para el desarrollo de la industria farmacéutica con repercusiones en las ciencias médicas. Además, los estudios derivados de esta ciencia también tienen relevancia en el progreso de la industria alimenticia, cosmética, textil, entre otras. ^[12,13]

La palabra farmacognosia etimológicamente significa “conocimiento de los fármacos”. Proviene del griego *Pharmakon* que significa remedio y *gnosis* que quiere decir conocimiento. El término farmacognosia como tal, fue utilizado por primera vez en 1815 por Seydler en su publicación titulada *Nalecta Pharmacognosia*. En esta obra definió a la farmacognosia como una ciencia enfocada al estudio del conocimiento de las drogas medicinales. Actualmente se tiene un sentido más amplio de esta ciencia, siendo la encargada de estudiar la historia, el cultivo, la recolección, preparación, preservación, comercialización, distribución, identificación y evaluación de los componentes químicos de estudio y del uso tradicional de estos compuestos químicos o sus derivados y proporciona los elementos necesarios para determinar su actividad farmacológica y mejorar la salud y el bienestar del ser humano y otros animales. ^[14,15]

La farmacognosia no sólo se enfoca al estudio de sustancias con efectos terapéuticos, sino también de moléculas que sirvan como modelo estructural para la síntesis de nuevos compuestos más potentes; así como de materias primas para los procesos de hemisíntesis y obtener sustancias activas como hormonas



esteroideas, anestésicos locales y antibióticos; además de enfocarse también a la búsqueda de sustancias naturales que pueden ser aplicadas en la industria en general. ^[16]

2.1.7 Familia Asteraceae

Esta familia también llamada *Compositae* es reconocida como la familia con mayor riqueza y diversidad biológica.

La familia *Asteraceae* se divide en 13 tribus y es una de las más diversas y ampliamente distribuida de las angiospermas debido a su plasticidad genética, a su capacidad de distribución y a su capacidad para adaptarse a diferentes condiciones ecológicas. También, se considera que su plasticidad química ha desempeñado un papel preponderante en su diversificación debido a la presencia de metabolitos secundarios que han sido usados como mecanismo de defensa contra depredadores y/o competidores. ^[17]

2.1.7.1 *Montanoa tomentosa* (Zoapatle)

El estudio científico de las plantas medicinales en México, se inició a finales del siglo pasado, en el entonces instituto médico nacional. ^[18] Entre las plantas estudiadas se encuentra el Zoapatle, empleada en decocciones acuosas para facilitar las labores del parto y probablemente evitar la concepción. ^[19]

Su nombre proviene de la palabra náhuatl “cihiapatli” (cihutl-mujer y patli-medicina). Se conoce comúnmente como achina, guapijo, hierba de la parida, hierva de la mujer y too. ^[20] Su nombre científico fue designado en alusión a Luis Montaña, médico mexicano que dedico y baso parte de su investigación en el estudio de los efectos de plantas que facilitan el parto. ^[21]



Desde el punto de vista taxonómico es una planta compuesta perteneciente al género *Montanoa* que incluye 25 especies y 6 subespecies, 21 de las cuales se pueden encontrar en la república mexicana. Es un arbusto de unos tres metros de altura, muy ramificado, con hojas opuestas y sus flores varían en tonos que van del blanco al amarillo, dependiendo de la especie. [22]



Imagen 2 *Montanoa tomentosa* [23]

Reino: <u>Plantae</u>	Localización: Áreas cercanas al valle de México, en bosques espinosos y desiertos. A la orilla de brechas y arroyos.
División: <u>Magnoliophyta</u>	
Clase: <u>Magnoliopsida</u>	
Familia: <u>Asteraceae</u>	Tipos de climas: Áridos a semiáridos a 1900 a 2800 <u>m.s.n.m</u>
Tribu: <u>Heliantheae</u>	Tipo de planta: Arbusto muy ramificado.
Género: <u>Montanoa</u>	Forma de hojas: Acorazonadas y opuestas.
Especie: <u>Tomentosa</u>	Altura: 1 a 3 m
Subespecie: <u>tomentosa</u>	

Tabla 1 Clasificación botánica del Zoapatle [24]

Las especies de *Montanoa* se localizan exclusivamente en el continente americano e islas adyacentes, en México se encuentran distribuidas principalmente en el área comprendida de Durango, Nuevo León, Chiapas, San



Luis Potosí, Sinaloa, Guerrero, Michoacán, Guanajuato, Queretano, Hidalgo, Veracruz, Estado de México y Oaxaca.

Hoy en día en los mercados de plantas medicinales se venden como Zoapatle varias especies de *Montanoa* como la *M. tomentosa*, *M. frutescens* y *M. floribunda*.

El Zoapatle es una planta utilizada en forma de extracto acuoso (en forma de té, hirviendo las hojas de la planta de 10 a 20 minutos) desde hace más 500 años con fines curativos. El uso medicinal que daban a esta planta los Mexicanos era para aliviar los padecimientos de la mujer al término del embarazo, induciendo la labor de parto al incrementar las contracciones uterinas y también para disminuir el tiempo de cuarentena postparto. ^[25,26]

El género *Montanoa* es una fuente rica de compuestos de naturaleza diterpénica sobre todo derivados del ent-kaureno con propiedades farmacológicas probadas que van desde relajantes del músculo liso, antimicrobianas y anticancerígenas. Dada la naturaleza aromática de esta planta y su composición de volátiles como el alfa pineno y el valenceno que es precursor de la notkatona, el aceite esencial de la planta podría ser utilizado en la industria cosmética. En la industria farmacéutica los fenilpropanoides como la isoquercitrina y la nicotiflorina también son cuantiosos y valuados por su potente efecto antioxidante. Las agliconas triterpénicas tipo lupelos también encontradas en el género han mostrado un posible empleo en el tratamiento de la obesidad, dado que algunos de estos tienen efecto inhibitorio de enzimas lipolíticas. ^[21]

Se han aislados más de 40 compuestos químicos de la *Montanoa Tomentosa subs. Tomentosa* y especies afines. De todos estos compuestos químicos sólo se ha probado la acción farmacológica de algunos, entre los cuales se encuentran: el Montanol, Zoapatanol, Tometol, Tomexantina, ácido kauradienoico y ácido kaurenoico. ^[27]



El extracto acuoso de la planta presento mayor potencia farmacológica para producir actividad uterotónica que los extractos orgánicos (cloroformo, alcohol, etc.) [28]

Además, en su composición también se encuentran presentes varios tipos de lactonas sesquiterpénicas contenidas en las hojas de las plantas, a las cuales se le atribuye un posible efecto citotóxico. [29]

2.1.8 Lactonas sesquiterpénicas

Las lactonas sesquiterpénicas constituyen un grupo de terpenoides C 15 con un anillo lactónico, son constituyentes características de plantas de la familia *Compositae*, aunque se han encontrado en otras pocas plantas de familias como *Magnoliaceae*, *Umbelifereae* y *Lauraceae*. [30] Sin embargo, el mayor número de lactonas publicadas son aisladas de las plantas pertenecientes a la familia *Asteraceae*. Las concentraciones de lactonas sesquiterpénicas pueden variar entre el 0.01 y el 8% del peso, y se les encuentra generalmente en hojas y partes floridas. [29] Mayoritariamente se encuentran sesquiterpenoides con esqueleto de germacrano, eudesmano y guayano. Para varios sesquiterpenos se han descrito distintas actividades biológicas tales como antiinflamatoria, antibacteriana, antifúngica y citotóxica. [31]

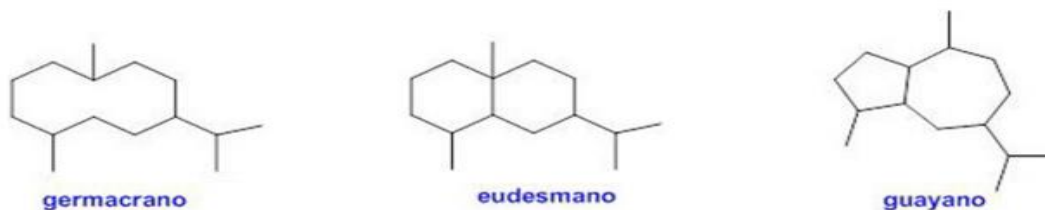


Imagen 3 Esqueletos de sesquiterpenoides [31]

Algunos ensayos demuestran que los extractos de la familia *Asteraceae*, así como también, las lactonas purificadas poseen propiedades antiinflamatorias. Los macrófagos desempeñan una función central en la regulación de la respuesta inmune, así como también en la reparación tisular. En respuesta al lipopolisacárido



(LPS), los macrófagos secretan citocinas pro inflamatorias y radicales libres o especies reactivas de oxígenos (ROS), tales como, aniones superóxido.

Se ha sugerido que el estrés oxidativo causado por ROS, es uno de los principales efectos dañinos por el LPS. ^[31]

2.2 Modelo experimental

2.2.1 *Animales de laboratorio*

El Animal de laboratorio es cualquier especie animal que se mantiene bajo condiciones determinadas y se utiliza con fines científicos.

El reactivo biológico es un animal estandarizado, lo que significa que tiene una composición genético-sanitaria definida, son criados y mantenidos en ambientes controlados que cumplen con los requerimientos específicos para cada especie, los cuales garantizan, además el bienestar animal. El estado sanitario de los animales de laboratorio está determinado por un complejo multifactorial en el que interactúan: además de la biología del animal, y el perfil genético, las condiciones ambientales del alojamiento, así como las prácticas y manejo al que son sometidos estos animales y sus insumos. ^[32]

2.2.2 *Modelos y características*

Dentro de los modelos de experimentación sin duda, el ratón es el más conocido y utilizado en la mayor parte de las experiencias in vivo de biología y medicina, es en general el modelo elegido para conocer la reacción de un organismo mamífero frente a una agresión, una intoxicación o una infección experimental (parasitaria, bacteriana o vírica); reacciones o trastornos inmunológicos, oncología, teratología y embriología. Muchos investigadores consideran al ratón como un modelo animal casi perfecto porque además de su corto tiempo generacional, alta tasa reproductiva y fácil mantenimiento, son los animales más sofisticados que pueden ser utilizados por los investigadores. La Rata ocupa el segundo lugar, es utilizada además en investigaciones nutricionales, comportamentales y endocrinológicas. El conejo es utilizado fundamentalmente en la producción de antisueros;



farmacología; toxicología; teratogenicidad y reproducción. Los cobayos son modelos de estudios inmunológicos, farmacológicos y nutricionales. El Hamster se utiliza fundamentalmente en la reproducción, citogénesis e inmunología. ^[32]

Para el diseño del experimento se determinan las siguientes especificaciones:

- Seleccionar el modelo animal adecuado, el cual depende de la especie, cepa y de la calidad del animal.
- Justificar el número de animales seleccionados, no deberá superar el mínimo necesario para asegurar la confiabilidad de los resultados.
- La selección del inóculo: dosis, vía y frecuencia. ^[32]

Además, la FDA considera los siguientes puntos para un modelo animal:

- Los animales son sistemas biológicos complejos que tendrán variación animal individual
- Los estudios deben ser reproducibles.
- Utilizar instrumentos y procedimientos estandarizados.
- Las técnicas o métodos deben ser lo suficientemente sensibles como para hacer comparaciones en los estudios y entre las especies.

Resultados comparables si el estudio se vuelve a llevar a cabo. ^[33]

2.2.3 *Ratón de laboratorio*

El ratón de laboratorio es un roedor cuyo ancestro es el ratón común o casero.

Los ratones CD1 son de origen suizo descendientes de ratones albinos. Fueron importados del Instituto Rockefeller en 1926 desde Lausana Suiza. A partir de 1948 fueron establecidos en el Instituto para la investigación de cáncer (ICR) en Filadelfia.



El ratón CD1 pertenece a un grupo de ratones denominados no consanguíneos. Su popularidad se debe a que son mucho más baratos que las líneas consanguíneas, buenos reproductores, pequeños, de fácil manejo y alimentación; un ciclo de vida corto. Pueden utilizarse en pruebas toxicológicas, drogas de abuso, oncología, nutrición, vacunas, bacteriología, reproducción y embriología, neurología etc. ^[34]


	Clase	Mamifera
	Orden	Rodentia
	Suborden	Miomorfa
	Familia	Muridae
	Subfamilia	Murinae
	Género	Mus
	Especie	musculus

Tabla 11 Taxonomía del ratón de laboratorio ^[34]

2.3 Estudio de toxicidad

2.3.1 Toxicología y farmacología

La farmacología se define como el estudio de sustancias o fármacos que interactúan con sistemas vivos por medio de procesos químicos, en especial cuando se unen con moléculas reguladoras, y activan o inhiben procesos corporales normales. Mientras que la toxicología es la rama de la farmacología que estudia los efectos indeseables de las sustancias química en los sistemas vivos. ^[36]

La toxicología se basa fundamentalmente en conocimientos químicos y biológicos, tratando de encontrar explicaciones detalladas de los efectos tóxicos. Uno de los conceptos fundamentales de la toxicología es que sólo la dosis determina la toxicidad, como observo Paracelso “todas las sustancias son venenosas, no hay ninguna que no sea venenosa. La dosis es lo que diferencia el veneno del remedio” ^[37,38]



De modo genérico se puede definir la toxicidad de una sustancia como su capacidad de producir efectos nocivos a un organismo vivo. De este modo habrá sustancias altamente tóxicas que producirán efectos nocivos a bajas dosis y sustancias débilmente tóxicas que producirán efectos nocivos a altas dosis. Por lo tanto, la toxicidad de cualquier sustancia, debe considerarse siempre en relación a la dosis, no hay grupo de sustancias tóxicas y otras de sustancias no tóxicas, sino únicamente diferencias en el grado de toxicidad. [39]

Los principios activos de las plantas no siempre son benéficos, ya que pueden contener sustancias nocivas que ocasionan trastornos al ser humano, los cuales van desde irritaciones y comezón, hasta vómitos, diarreas e incluso la muerte.

Se les llama plantas tóxicas a aquellas que contienen alguna sustancia química capaz de producir algún tipo de trastorno al bienestar del humano. Debido a que se ha observado que algunas plantas de uso común en las poblaciones son plantas tóxicas, es importante un conocimiento científico y no sólo empírico de cuáles son y sus efectos secundarios. [40]

2.3.1.1 Toxicidad aguda

La toxicidad aguda de una sustancia se define como “los efectos tóxicos adversos que aparecen en un periodo corto después de la administración de una dosis única o de múltiples dosis repetidas en un intervalo de 24 horas”

La evaluación de la toxicidad aguda se efectúa administrando la sustancia o las sustancias problemáticas una sólo vez, con el fin de establecer la dosis que provoca la muerte del 50% de los animales o causa un efecto no deseado. [39]

La toxicidad aguda de una sustancia se expresa como lo mg/kg de peso corporal (p.c) necesarias para matar al 50% de la población de animales de estudio, lo cual ha sido definido como la dosis letal media (DL₅₀). La elección de este porcentaje de mortalidad se basa en el hecho de que el animal como sistema de ensayo se caracteriza ante todo por su variabilidad. Además, es necesario indicar que en la parte media del trazado de la respuesta “dosis-efecto”, el 50% es en donde a la menor variación de la dosis se presenta una mayor variación en el efecto. Por esta



razón, la llamada dosis letal media puede determinarse con mayor precisión, por lo que se adopta este valor como el más representativo para expresar la toxicidad aguda de una sustancia. [41,42]]

Categoría	DL50 (dosis única)
Súper tóxico	5 mg/kg de peso
Extremadamente tóxico	5-50 mg/kg de peso
Altamente tóxico	50-500 mg/kg de peso
Moderadamente tóxico	0.5-5 g/Kg de peso
Ligeramente tóxico	5-15 g/Kg de peso
Prácticamente no tóxico	>15 g/Kg de peso

Tabla 10 Clasificación de productos tóxicos por vía oral^[42]

2.3.1.2 Toxicidad subaguda

La toxicidad subaguda o subcrónica es el conjunto de efectos observados después de una administración continua, repetida o frecuente de una o varias dosis de la sustancia estudiada en un periodo alrededor del 10% del ciclo de vida del animal de experimentación. Las especies elegidas son generalmente ratas o ratones, pero también se utilizan otros animales como el perro o el mono.

La duración de los estudios no excede 90 días, por lo general tiene una duración de 14 días. La dosis suele seleccionarse con base a la información obtenida de los estudios de toxicidad aguda. Por otro lado, en este tipo de estudio, además de los animales de experimentación, se ocupan animales control, los cuales no reciben tratamiento químico de prueba, sino que únicamente se les proporciona el vehículo o excipiente en el cual se encuentra la sustancia a estudiar.

Su principal objetivo es determinar los posibles efectos acumulativos en los tejidos y sistemas metabólicos, proporcionando:

- Información sobre los efectos tóxicos principales de una sustancia y los órganos diana implicados.



- Indicaciones sobre la reversibilidad o irreversibilidad de los efectos, precisando si estos son acumulativos o retardados.
- Orientación para la elección de dosis que puedan utilizarse para los estudios a largo plazo o término.

Entre las observaciones a realizar, para evidenciar los efectos tóxicos potenciales de la sustancia en cuestión, se encuentran:

- Observaciones clínicas: incluyen los aspectos, la conducta o comportamiento y cualquier anomalía.
- Peso corporal y consumo de alimento: estos aspectos deben determinarse en base semanal. La pérdida de peso corporal es un índice simple, aunque un indicador útil. Además, una disminución marcada en el consumo de alimentos puede inducir efectos que limiten o empeoren las manifestaciones tóxicas del producto químico,
- Examen hematológico: suelen incluir el hematocrito, la hemoglobina, la cuenta de eritrocitos y la cuenta de leucocitos diferenciales.

En circunstancias especiales se hacen pruebas de funcionamiento hepático, renal y gastrointestinal, así como mediciones de la presión sanguínea y de la temperatura corporal. Al terminar el experimento en todos los animales se les practica una autopsia, prestando atención a los cambios patológicos macroscópicos, incluyendo los cambios de peso de los órganos principales y glándulas. ^[43,44,45]

2.3.1.3 Toxicidad crónica

Es un estudio de similar forma a la exposición subcrónica, la diferencia radica en que el estudio se prolonga de 6 meses hasta 2 años, si el estudio lo requiere, la selección de la dosis es crítica en este tipo de estudios ya que se puede llegar a incluir características carcinogénicas del compuesto. La verdadera finalidad del estudio es encontrar toxicidad progresiva debido a que la sustancia tóxica se acumula dentro del animal. ^[46]



2.3.2 Perfil renal

2.3.2.1 Riñón

Los riñones son un par de órganos encapsulados, la sangre se filtra en los riñones para retirar desperdicios, en particular la urea y los compuestos nitrogenados. La unidad anatómica de la función renal corresponde a la nefrona, una estructura consistente en una madeja de capilares denominada glomérulo, el sitio en el cual la sangre se filtra, y un túbulo renal desde el cual se reabsorbe agua. ^[46]

2.3.2.1.1 Urea

El compuesto nitrogenado no proteico presente en concentraciones más altas en la sangre es la urea. Se sintetiza en el hígado formado de CO₂ y el amoníaco que proviene de la desaminación de aminoácidos en las reacciones del ciclo de la urea esta última es el producto excretorio principal del metabolismo de proteínas. Después de la síntesis en el hígado, la urea es llevada en la sangre hacia el riñón, donde se filtra fácil desde el plasma por el glomérulo. La mayor parte de la urea en el filtrado glomerular se reabsorbe por difusión pasiva durante el paso del filtrado por lo túbulo renales. La cantidad reabsorbida depende del flujo de orina y el grado de deshidratación. ^[47]

2.3.2.1.2 Creatinina/Creatina

La creatina se sintetiza sobre todo en el hígado a partir de arginina, glicina y metionina. Luego, es transportada a otro tejido, como el musculo, donde se convierte en fosfato de creatina, que sirve como una fuente de alta energía. El fosfato de creatina pierde ácido fosfórico, y la creatina pierde agua para forma creatinina, que pasa hacia el plasma.



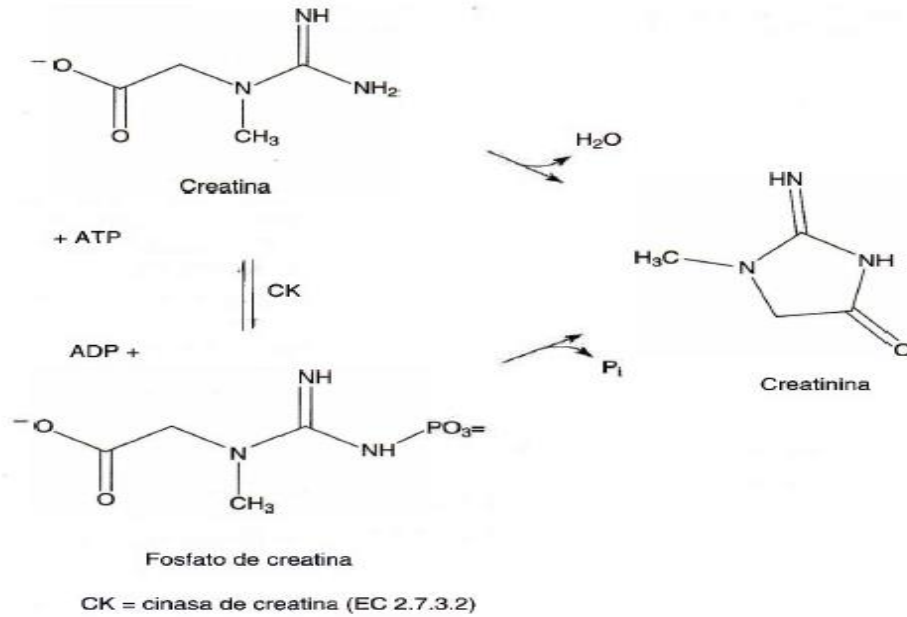


Imagen 4 Interconversion de creatina, fosfato de creatina y creatinina ^[47]

La creatinina se libera hacia la circulación a una tasa relativamente constante, que se ha demostrado es proporcional a la masa muscular individual, se elimina de la circulación por filtración glomerular y se excreta en la orina, el túbulo proximal secreta cantidades adicionales de creatinina, los túbulos renales pueden reabsorber también cantidades pequeñas. ^[47]

2.3.2.1.3 Ácido úrico

En los primates superiores, como humanos y simios, el ácido úrico es el producto de descomposición final del metabolismo de la purina. La mayor parte de los mamíferos tienen la capacidad para catabolizar purinas a alantoína, un producto final más soluble en agua.

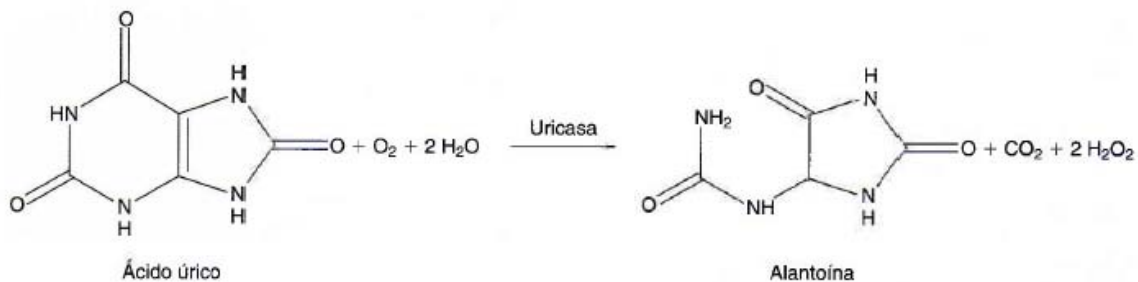


Imagen 5 Conversión de ácido úrico a alantoína ^[47]



Las purinas, como la adenosina y la guanina de la descomposición de ácidos nucleicos ingeridos o de la destrucción de tejido, son convertidas en ácido úrico, sobre todo en el hígado. El ácido úrico es transportado en el plasma del hígado a los riñones, donde se filtra a través del glomérulo. ^[47]

2.3.2.1.4 BUN-Nitrógeno ureico en sangre

El BUN es una medida indirecta y general de la función renal y la tasa de filtración glomerular (si la función hepática es normal), también es una determinación de la función hepática, el BUN cuantifica la cantidad de nitrógeno ureico en sangre. Casi todas las enfermedades renales inducen una excreción inadecuada de urea, de tal modo que la concentración sérica rebasa el parámetro normal. ^[47]

2.3.3 Perfil hepático

2.3.3.1 Hígado

El hígado es el mayor órgano del cuerpo y uno de los órganos más importantes en cuanto a la actividad metabólica que desarrolla. Dentro de sus funciones destacan: el almacenamiento de glucógeno, síntesis de ácidos grasos, conversión de cetonas, formación de lipoproteína, colesterol y fosfolípidos, además síntesis de proteínas plasmáticas, conversión y desaminación de aminoácidos y formación de urea; detoxificación de sustancias endógenas como la bilirrubina, bacterias, subproductos y sustancias exógenas como fármacos. ^[48]

2.3.3.1.1 Transaminasas

Dentro de las pruebas que informan de lesión hepatocelular o citolisis destacan las transaminasas o aminotrasferasas. Estas representan enzimas del metabolismo intermedio, que catalizan la transferencia de grupos amino del ácido aspártico a alanina al ácido acetoglutarico, formando ácido oxalacético y ácido pirúvico. En el hígado se producen múltiples reacciones de transaminación, pero las únicas con valor clínico es la aspartato-aminotransferasa o transaminasa glutámicooxalacética (AST o TGO) y la alanino-aminotransferasa o transaminasa glutámico-pirúvica (ALT o TGP)



La ALT es más específica de daño hepático que la AST, debido a que la primera se encuentra casi exclusivamente en el citoplasma del hepatocito, mientras que la AST, además del citoplasma y mitocondria, se encuentra en el corazón, músculo esquelético, riñones, cerebro, páncreas, pulmón, eritrocito y leucocitos. ^[49]

2.3.3.1.2 AST

La AST es una enzima bilobular, se encuentra distribuida en el citoplasma y en las mitocondrias de las células, junto a la ALT cumple un rol diagnóstico y de monitoreo de enfermedades con daño hepatocelular y muscular. Un aumento simultáneo de ambas concluye en un proceso de necrosis hepatocelular de cualquier índole. Debido a la localización intracelular de las transaminasas es que se puede inferir que ante un aumento significativo de ALT sobre AST hay un daño celular difuso con ruptura de membranas celulares y compromiso citoplasmático, un aumento de AST frente a ALT el compromiso necrótico es más profuso y severo. La magnitud del aumento de ambas se correlaciona con la cantidad de células involucradas. El índice de Rittis (AST/ALT) es menor de 1 cuando el daño es leve, en el caso de hepatitis viral aunado a la menor vida media de la AST con respecto a la ALT. Cuando supera a 1 y particularmente 2, la necrosis celular es profunda tal el caso de hepatitis alcohólicas o hepatitis crónicas. ^[49]

2.3.3.1.3 ALT

La alanina-aminotransferasa es una enzima unilocula (citoplasmática) cuya mayor actividad se localiza en el parénquima del tejido hepático. En mucha menor proporción, se encuentra actividad de ALT en musculo, corazón, riñón, páncreas y eritrocitos. En la medida que se encuentren elevadas especialmente la ALT se debe inferir que el daño persiste. Los mayores aumentos de actividad ALT en suero se producen como consecuencia de alteraciones hepáticas. La ALT tiene una sensibilidad clínica del 83% y una especificidad clínica del 84% ^[49]



2.4 Antimicrobianos

El uso de los agentes antimicrobianos en la terapéutica de las enfermedades infecciosas, ha constituido un acontecimiento sin precedentes, porque la curación y control de las infecciones permitió modificar favorablemente el panorama de la morbilidad y la mortalidad. ^[50]

Un agente antimicrobiano es cualquier sustancia natural o sintética con la habilidad de inhibir o destruir a un microorganismo, por lo cual incluye tanto antibióticos como antisépticos. ^[51]

2.4.1 Antisépticos y desinfectantes

El término antiséptico debe aplicarse a los procedimientos y/o sustancias que actúan sobre los microorganismos que viven sobre los seres vivos, inhiben su actividad y crecimiento, llegando en algunos casos a su destrucción.

El término desinfectantes se reserva a productos que actúan sobre espacios y materiales no vivos. ^[51]

2.4.2 Cualidades de los antisépticos

Para indicar que una sustancia es un buen antiséptico debe contar con las siguientes cualidades:

- No deben ser neutralizados por los líquidos o fluidos biológicos.
- Deben actuar sobre los microorganismos respetando la integridad de la piel o sustrato sobre el que actúan
- No deben ser tóxicos o serlo en proporción aceptable.
- Deben actuar sobre el mayor número de gérmenes patógenos.
- Su acción debe ser lo más rápida posible, así como la duración de su efecto.
- No deben causar molestia en su aplicación.



- Deben ser de fácil almacenaje y utilización.
- Deben carecer de efectos ecológico nocivos. ^[52]

Método	Concentración (grado de actividad)
Calor	
Calor húmedo	75-100 °C durante 30 min. (alto)
Líquidos	
Glutaraldehido	2-3.5% (alto)
Peróxido de hidrógeno	3-25% (alto)
Formaldehido	3-8% (alto/intermedio)
Dióxido de cloro	Variable (alto)
Ácido peracético	Variable (alto)
Compuestos de cloro	100-1000ppm de cloro libre (ato)
Alcohol (etílico, isopropílico)	70-95% (intermedio)
Fenoles	0.4-5% (intermedio/bajo)
Compuestos yodados	30-50 ppm de yodo libre/L (intermedio)
Compuestos de amonio cuaternario	0.4-1.6% (bajo)

Tabla 2 Métodos de desinfección ^[53]

2.4.2.1 Alcoholes

El isopropílico es más activo que el etílico, y este último más eficaz con 70° que con 90°. Por lo cual su efectividad es mayor conforme aumenta la longitud de la cadena. No obstante, los alcoholes no son activos contra las esporas bacterianas y su actividad es débil frente a algunos hongos y virus lipídicos.



2.4.2.2 *Agentes oxidantes*

Ejemplos de estos agentes son el ácido peracético, el ozono y el peróxido de hidrógeno. A una concentración de un 3 a 6% el peróxido de hidrógeno destruye de manera eficaz la mayor parte de las bacterias; a concentraciones más altas (10-25%) provoca la destrucción de todos los microorganismos, incluidas esporas.

2.4.2.3 *Halógenos*

Los compuestos como el yodo o cloro, se utilizan ampliamente como desinfectantes. Los compuestos de yodo son los halógenos más eficaces de que se dispone para la desinfección. El yodo es un elemento muy reactivo que precipita proteínas y oxida enzimas. Es microbicida prácticamente contra todas las bacterias, incluyendo esporas y micobacterias.

2.4.2.4 *Compuestos fenólicos*

Los compuestos fenólicos se utilizan raras veces como desinfectantes. Sin embargo, tienen interés histórico porque se utilizaron como método de referencia.

2.4.2.5 *Compuestos de amonio cuaternario*

Están formados por cuatro grupos orgánicos unidos covalentemente al nitrógeno. La actividad germicida está determinada por la naturaleza de los grupos orgánicos, con grupos de 8 a 18 átomos se observa mayor actividad. Entre los ejemplos se encuentra el cloruro de benzalconio y el cloruro de cetilpidinio.^[53]



Producto	Bacterias	Micobacterias	Esporas	Hongos	Virus
Alcohol	+	+	-	+	+/-
Peróxido de hidrógeno	+	+	+/-	+	+
Formaldehido	+	+	+	+	+
Fenoles	+	+	-	+	+/-
Cloro	+	+	+/-	+	+
Yodos	+	+/-	-	+	+
Glutaraldehido	+	+	+	+	+
Amonio	+/-	-	-	+/-	+/-

Tabla 3 Propiedades de desinfectantes y antisépticos ^[53]

2.4.2.6 Derivados mercuriales

Son bacteriostáticos. Se utilizan en la asepsia de la piel, si bien su uso es cada día más restringido por el peligro de absorción y acumulación en el organismo, y por sus efectos negativos ecológicos. Las dos formas más frecuentes son el mercurocromo y el mertiolathe al 2%. ^[52]

2.4.3 Antibióticos

Un antibiótico es una sustancia química de origen natural, semisintética o sintético que tiene la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo ya sea bacteria, hongo o protozooario. Son nombrados bacteriostáticos si tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de los microorganismos o bactericidas si los destruyen. Normalmente los antibióticos son clasificados de acuerdo al mecanismo por el cual actúan sobre los microorganismos. ^[54]



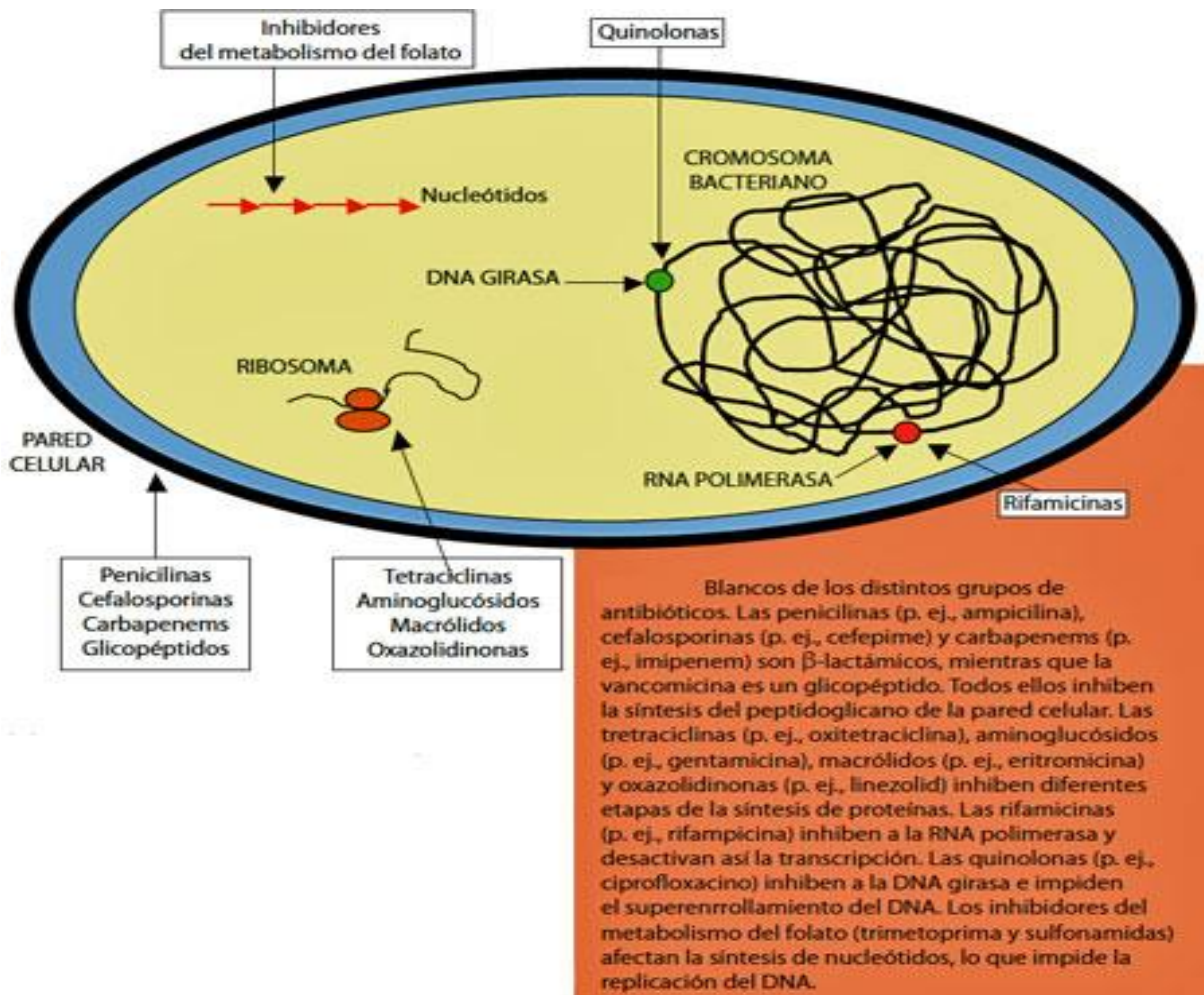


Imagen 6 Sitios básicos de la actividad de los antibióticos ^[53]

Mecanismo de acción	Ejemplos
Inhibición de la síntesis de la pared celular	Penicilinas, Cefalosporinas, vancomicina, bacitracina, oxacilina, nafcilina.
Daño a la membrana plasmática	Polimixina, nistatina, anfotericina B
Inhibición de la síntesis de proteínas	Aminoglucosidos, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina
Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos	Rifamicina, actinomicina D, ácido nalidixico, ciprofloxacina, norfloxacina.
Anti metabolitos	Trimetoprim, sulfamidas.
Inhibidores de betalactamasas	Sulbactam, clavulanato, tazabactam
Antifímicos	Etambutol, pirazinamida, isoniazida, estreptomina, rifampicina.

Tabla 4. Mecanismo de acción de antibióticos y ejemplos. ^[54]



2.4.3.1 Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular

Actúan a distintos niveles de la biosíntesis del peptidoglucano, capa esencial para la supervivencia de las bacterias, el daño se produce por la pérdida de la rigidez de la célula bacteriana que puede causarle la muerte; por lo tanto, son considerados como agentes bactericidas. La síntesis del peptidoglucano se lleva a cabo en tres etapas y los distintos antimicrobianos pueden afectar cada una de ellas. Los representantes de este grupo son las penicilinas y cefalosporinas.

2.4.3.2 Antibióticos que dañan la membrana citoplásmica

Numerosos agentes catiónicos y aniónicos pueden causar la desorganización de la membrana. Dentro de los antibióticos que actúan a este nivel, está la polimixina B y la colistina (polimixina E), inhibidores de bacterias Gram negativas que tienen lípidos de carga negativa en su superficie. Su acción es desorganizar la permeabilidad de la membrana ocasionando la salida de cationes de la célula bacteriana. Las polimixinas no son de uso sistémico, pues pueden unirse a varios ligandos de células del tejido corporal y son tóxicas para el aparato renal y sistema nervioso. Otro antibiótico que actúa en la membrana es la gramicidina, la cual produce desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y la formación de poros por donde puede haber pérdida del contenido citoplasmático de la bacteria.

2.4.3.3 Antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos

Muchos agentes antimicrobianos pueden interferir a diferentes niveles en la síntesis de los ácidos nucleicos. Pueden inhibir la síntesis de nucleótidos o causar una interconversión de nucleótidos, pueden interferir con polimerasas involucradas en la replicación y transcripción del ADN. Un grupo numeroso de agentes interfieren con la síntesis de purinas y pirimidinas dando lugar a interconversión de nucleótidos o actuando como análogos de nucleótidos e incorporarse a la cadena de polinucleótidos.

La rifampicina inhibe la actividad de la RNA polimerasa bacteriana dependiente de DNA, uniéndose en forma no covalente pero muy firme a esta enzima. La RNA



polimerasa es una enzima cuyas cadenas polipeptídicas se unen a un factor que confiere especificidad para el reconocimiento de los sitios promotores precisos requeridos para iniciar la transcripción del DNA. La rifampicina se une a subunidades de la RNA polimerasa e interfiere específicamente con la iniciación del proceso, pero no tiene efecto después de que la polimerización se ha iniciado.

La inhibición de la replicación del DNA puede provocarse por antimicrobianos que inhiben la actividad de la DNA girasa, involucrada en el rompimiento y reunión de tiras de DNA. La girasa está constituida por dos componentes, A y B. El ácido nalidíxico, una quinolona, se une al componente A de la DNA girasa e inhibe su acción. El ácido nalidíxico tiene acción antimicrobiana sólo contra especies Gram negativas, aunque recientemente se ha sintetizado un derivado carboxil fluorinado que inhibe bacterias Gram positivas. La subunidad B de la DNA girasa puede ser inhibida por agentes como la novobiocina, un antibiótico de uso restringido debido a su toxicidad.

2.4.3.4 Antibióticos que inhiben la función ribosomal

Los ribosomas 70S bacterianos están constituidos por dos subunidades designadas como subunidad 30S y subunidad 50S. Estas subunidades constituyen el sitio de acción de agentes antimicrobianos, localizándose en ellas proteínas específicas a las cuales se unen las drogas. Los aminoglucósidos (estreptomina, neomicina, kanamicina, amikacina, tobramicina, gentamicina, espectinomicina, paromomicina), son azúcares complejos obtenidos de varias especies de *Streptomyces* e interfieren con la función ribosomal bacteriana, específicamente con la subunidad 30S. La espectinomicina se une a proteínas diferentes del ribosoma, no es bactericida y se usa ampliamente en el tratamiento de la gonorrea.

Las tetraciclinas actúan también en la subunidad ribosomal 30S inhibiendo la unión del aminoacil RNA al ribosoma, sólo que esta unión no es definitiva sino temporal, por lo cual ejerce sólo un efecto bacteriostático. El uso de las



tetraciclinas es amplio en la terapéutica de infecciones causadas por bacterias de los géneros *Chlamydia* y *Mycoplasma*.

La paromomicina se une también a la subunidad ribosomal 30S y causa bloqueo del RNAt con la consecuente liberación de cadenas incompletas.

Tres clases importantes de drogas actúan en la subunidad ribosomal 50S: cloranfenicol, macrólidos y lincinoides (lincomicina, clindamicina). El cloranfenicol es un agente bacteriostático que actúa contra organismos Gram positivos y Gram negativos inhibiendo la formación de uniones peptídicas al bloquear la enzima peptidil transferasa. Los macrólidos (eritromicina, oleandomicina), son compuestos con grandes anillos de lactona y al unirse a la subunidad 50S interfieren con la actividad de la peptidil transferasa, con la translocación o con ambas funciones. El más importante es la eritromicina que actúa sobre bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas como *Haemophilus*, *Chlamydia* y *Legionella*, inhibe la formación de cadenas nuevas del péptido y es bacteriostático.

2.4.3.5 Antibióticos del grupo antimetabolitos

Tanto el trimetoprim como las sulfonamidas interfieren en el metabolismo de los folatos, por bloqueo competitivo en la biosíntesis de los tetrahidrofolatos precursores del ácido fólico. Las sulfonamidas bloquean competitivamente la conversión del pteridina y ácido Para-amino-benzoico (PABA) a ácido de hidrofólico. El trimetoprim tiene una gran afinidad para la enzima dehidrofolato reductasa y al unirse a ella inhibe la síntesis de tetrahidrofolatos necesarios para la síntesis de DNA, RNA y proteínas de la pared celular bacteriana.

2.4.3.6 Antibióticos inhibidores de betalactamasas

Las betalactamasas son enzimas producidas por algunas especies bacterianas y son las responsables de la resistencia que presentan dichas bacterias hacia antibióticos que en su estructura química presentan el anillo betalactámico (como penicilinas y cefalosporinas), ya que las betalactamasas rompen ese anillo con lo cual bloquean la actividad antimicrobiana de estos compuestos. Los antibióticos



inhibidores de las betalactamasas son el ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam.

2.4.3.7 Antibióticos antifúngicos

2.4.3.7.1 Resistencia a los antimicrobianos e integrones

Las bacterias pueden ser intrínsecamente resistentes a más de una clase de antimicrobiano o pueden tornarse resistencia por mutación de novo o vía la adquisición de genes de resistencia de otras bacterias. La mayoría de los determinantes de resistencia a antibióticos están codificados en elementos genéticos tales como plásmidos, transposones, integrones y casetes de genes. Los integrones son elementos genéticos capaces de reconocer y capturar casetes de genes que portan determinantes de resistencia a antibióticos. Un integrón incluye un promotor, el gen para la integrasa que cataliza la recombinación y una secuencia de nucleótidos que funciona como sitio de recombinación (attI). Los integrones se encuentran como secuencias lineales de 500 a 1000 pb que forman parte de una gran molécula de DNA como son plásmidos o cromosoma bacteriano. Los casetes de genes contienen sólo un gen y una secuencia corta adicional, llamada elemento base 59 (59-pb o attC) que funciona como un sitio de recombinación específico. Generalmente, los genes que portan esos elementos carecen de promotor, y una vez que el casete es integrado y pasa a formar parte del integrón, sus genes pueden ser expresados por el promotor del integrón que está corriente arriba. ^[54]



Mecanismo de resistencia	Ejemplos
Enzimas que destruyen al antibiótico	Betalactamasas, cefalosporinasas
Alteración del receptor del antibiótico	Proteínas de unión a la penicilina
Inactivación del antibiótico	Acetilación del cloranfenicol
Cambios en la permeabilidad de la membrana	Tetraciclina, cloranfenicol
Metilación enzimática del RNA 23S	Eritomicina y licomicina
Bombas de expulsión	Expulsan al antibiótico al exterior
Bypass	Síntesis de una enzima resistente a la inactivación.

Tabla 5. Mecanismos de resistencia bacteriana ^[54]

2.4.4 Antimicóticos

Es posible utilizar un número escaso de antibióticos para combatir las micosis. Muchos tienen una o más limitaciones, como efectos secundarios profundos, un espectro antimicótico escaso, poca penetración en algunos tejidos y mutaciones de hongos resistentes por selección biológica. ^[55]

Lugar de acción	Ejemplos
Membrana citoplasmática	Polienos, Azoles, Alilaminas, Ticarbamatos
Pared celular	Lipopéptidos
Núcleo	Pirimidinas fluoradas, Miscelaneos

Tabla 6. Clasificación de antifúngicos según su mecanismo de acción. ^[55]

2.4.4.1 Antifúngicos que actúan sobre la membrana citoplasmática

La membrana plasmática desempeña una importante función en la división celular y el metabolismo. Las partículas lipídicas llamadas esteroides constituyen aproximadamente el 25% de la membrana celular pero el contenido difiere entre la célula fúngica y la de los mamíferos. En las células de los mamíferos predomina el



colesterol y en las células fúngicas el ergosterol. Polienos, azoles y alilaminas inhiben la síntesis de ergosterol o se fijan al mismo modificando la permeabilidad de la membrana plasmática. ^[55]

2.4.4.2 *Antifúngicos que actúan sobre la pared de las células fúngicas*

Los lipopéptidos actúan inhibiendo la síntesis de glucanos a través de la inactivación de la enzima 1,3-betaglucano sintetasa, enzima responsable de formar este polímero de la glucosa que es esencial para la estructura de la pared de la célula fúngica. La pared se debilita y se torna incapaz de soportar el estrés osmótico, por lo que la célula muere. Pertenecen a este grupo las papulacandinas, equinocandinas y los triterpenos glicosilados, productos naturales derivados de los hongos, cuyo efecto es fungicida. Estos agentes no afectan a las células de mamíferos porque carecen de las enzimas blanco de estos compuestos. ^[55]

2.4.4.3 *Antifúngicos que actúan sobre el núcleo de la célula*

Las pirimidinas fluoradas actúan como antimetabolitos. La más conocida de este grupo es la flucitosina o 5-fluorocitosina que inhibe el crecimiento y reproducción de los hongos. Este fármaco se convierte en 5-fluorouracilo (5-FU), el cual es fosforilado e incorporado al ARN, convirtiéndose en un dexosinucleotido. Este compuesto inhibe a la timidilato sintetasa e impide la síntesis de proteínas de la célula.

Su toxicidad depende de su concentración. Pueden aparecer molestias gastrointestinales (náuseas, vómitos y diarrea). Las reacciones adversas más graves son la leucopenia y trombocitopenia reversibles, que habitualmente son dosis dependientes y suelen aparecer a partir de la segunda semana de tratamiento. También se describen toxicidad hepática, eosinofilia y exantema. ^[55]



2.4.5 *Métodos para la detección de la sensibilidad a antimicrobianos*

La sensibilidad es la propiedad que tiene una sustancia antimicrobiana, esta determina si es o no eficaz para eliminar o inhibir un patógeno determinado. En la época posterior al descubrimiento de las sulfonamidas y de la penicilina, rara vez se probaba la sensibilidad de los microorganismos a los metabolitos secundarios de las plantas.

Tras el surgimiento de las cepas resistentes, poco después de la introducción de estos agentes antibacterianos, los microbiólogos comenzaron a probar la sensibilidad de un microorganismo infectante frente a los agentes antimicrobianos. La prueba de la sensibilidad mide el posible crecimiento del microorganismo cuando en el laboratorio se expone a gran variedad de antimicrobianos. ^[56]

Se han diseñado varios tipos de pruebas de sensibilidad a los antibióticos (antibiogramas). Las dos pruebas de referencia son los procedimientos por dilución macroscópica en caldo y por dilución en agar. Ambos están ideados para cuantificar la concentración mínima de un antibiótico que inhibe el crecimiento visible in vitro del microbio; la concentración inhibitoria mínima (CIM). La prueba más utilizada para guiar el tratamiento con antibióticos es el antibiograma por difusión con disco (Kirby-Bauer), en el cual las interpretaciones clínicas se derivan de las correlaciones con la prueba de referencia. En los últimos años, una cantidad creciente de laboratorios han utilizado de rutina una prueba en caldo miniaturizada (prueba por micro dilución en caldo) o un sistema comercial automatizado. ^[57]

2.4.5.1 *Prueba de sensibilidad por difusión con discos*

Prueba en la que tan pronto como el disco impregnado de antibiótico toma contacto con la superficie húmeda del agar previamente inoculado, el agua se absorbe en el papel filtro y el antibiótico se difunde en el medio que lo rodea. ^[39]



Después de la incubación las placas se examinan en busca de como fue el desarrollo de los microorganismos y de cuál fue la concentración mínima inhibitoria. Después de la incubación, el diámetro del halo de inhibición alrededor de cada disco se mide en milímetros. ^[51]

2.4.6 Plantas con actividad antimicrobiana

La resistencia de las bacterias a los antibióticos es un problema que se ha ido complicando, sobre todo en las últimas décadas, porque a medida que se han ido sintetizando nuevos antimicrobianos, han ido surgiendo cepas resistentes a los mismos, la resistencia se traduce en ineficacia de los tratamientos, generando un importante impacto en la salud. En respuesta a la necesidad de conseguir alternativas eficaces para el control de las infecciones bacterianas se ha recurrido a la fitoquímica y fitofarmacología, a pesar del avance alcanzado por la síntesis química, las plantas son una valiosa fuente de sustancias activas con propiedades antibacterianas. ^[58,59]

En la actualidad, hay muchas plantas cuya actividad antimicrobiana ha sido confirmada, tal es el caso de *Mentha piperita* (Menta), *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Lophophora williamsi* (Peyote), *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) entre muchas otras plantas de uso común. ^[60]

Los compuestos activos producidos durante el metabolismo vegetal secundario son generalmente responsables de las propiedades biológicas de algunas especies de plantas utilizadas en todo el mundo para varios propósitos, incluyendo el tratamiento de las enfermedades infecciosas. ^[41] Se ha descubierto que los aceites esenciales de algunas especias y plantas medicinales poseen actividad antimicrobiana, los aceites esenciales son metabolitos secundarios producidos dentro los tejidos de diversas plantas, son mezclas complejas de compuestos volátiles tales como terpenos (en especial mono terpenos y sesquiterpenos), compuestos fenólicos y alcoholes. ^[61]



Clase	Ejemplo
Fenoles	
Fenoles simples	Catecol, epicatequina
Ácidos fenólicos	ácido cinámico, ácido caféico
Quinonas	Hipericina
Flavonoides	Crisina
Flavonoles	Totarol
Flavona	Abisinona
Taninos	Elagitaninos
Cumarina	Warfarina
Terpenoides y aceites esenciales	
Terpenoides y aceites esenciales	Capsaicina, mentol
Alcaloides	
Berberina y piperina	
Lectinas y polipéptidos	
Lectina manosa-específica Fabatina	

Tabla 7 Principales clases y subclases de compuestos con actividad antimicrobiana que se encuentran en plantas^[61]

En el caso de la *Montanoa tomentosa*, pertenece a la familia *Asteracea*, cuyos metabolitos secundarios son flavonoides y aceites volátiles di y tri terpenicos. En general se encuentran acios iso- y clorogenico, lactonas sesquiterpenicas, alcoholes triterpenicos pentaciclicos y diversos acetilenos.^[62]

2.4.7 Breve descripción de los microorganismos usados

2.4.7.1 Bacterias

En general, las bacterias son microorganismo unicelular mucho más simple que las células eucariotas. Su tamaño varía entre 0.2 y 5 μm . Son células procariotas muy abundantes que pueden encontrarse en cualquier medio debido a la gran variedad de metabolismo que pueden presentar.^[63] Según la composición de su pared celular la tinción de Gram las divide en dos grupos:

- a) Gram Negativas: la pared está formada por dos capas. La capa interna está compuesta de peptidoglucano. La parte externa contiene moléculas de lipopolisacaridos, estas son sustancias toxicas, se denominan endotoxinas y son responsables de infecciones graves.



- b) Gram Positivas: La capa de peptidoglucanos es mucho más gruesa y la pared sólo contiene una capa. ^[64]

2.4.7.1.1 *Staphylococcus aureus*

Las bacterias del genero *Staphylococcus*, son coccos Gram positivos, anaerobios facultativos, que se agrupan de forma irregular. Producen catalasa que la diferencia de los *Streptococos* y *Enterococcus*.

S. aureus produce la enzima coagulasa que le permite coagular el plasma sanguíneo, su detección es fundamental para la identificación de esta especie. Es una bacteria normal de la piel y las mucosas. Puede colonizar otros lugares tales como la piel y el tracto gastrointestinal. Las infecciones por *S. aureus* son comunes y frecuentes, son agudas y piógenas. Las más frecuentes son las de la piel (impétigo y foliculitis) y de tejidos blandos (forúnculos, abscesos o infecciones en heridas quirúrgicas). ^[64]

2.4.7.1.2 *Escherichia coli*

Son bacilos Gram negativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, es anaerobio facultativo, que se encuentra en gran cantidad en el intestino humano.

E. coli posee numerosos factores de virulencia, pero estos no están presentes en todas las cepas. Así, la mayoría de las cepas saprofitas carecen de virulencia. Otros *E. coli* tienen factores específicos de virulencia que les permiten causar desde infecciones urinarias hasta infecciones muy graves como el síndrome hemolítico urémico. ^[64]

2.4.7.2 Hongos

Los hongos, a diferencia de las bacterias, son células eucariotas y tienen por tanto un núcleo con membrana nuclear que contiene varios cromosomas. Además, presenta organelos como mitocondrias, membrana citoplasmática con esteroides (ergosterol) y una pared de glucanos y quitina.



Dadas las enormes diferencias bioquímicas y estructurales entre hongos y bacterias, los antibióticos con actividad antibacteriana suelen ser ineficaces para el tratamiento de las infecciones causadas por hongos.

Dentro de los hongos existen dos grupos:

- a) Hongos filamentosos: Las células crecen unidas a otras de forma apical, formando filamentos o hifas que se entrecruzan formando una especie de tejido algodonoso llamando micelio.
- b) Hongos levaduriformes: Son células de forma generalmente ovalada y se reproducen por gemación, aunque a veces forman pseudohifas o pseudomicelio.

2.4.7.2.1 *Cándida albicans*

Produce una infección llamada candidiasis, puede localizarse en la mucosa oral (muget), vaginal, esofágica etc. Es muy frecuente en diabéticos, tras tratamientos con antibióticos o pacientes inmunodeprimidos. Cuando se produce invasión de órganos profundos hablamos de candidiasis invasoras, una entidad clínica de mayor gravedad. ^[64]

2.5 Diabetes mellitus

La epidemia de la diabetes mellitus (DM) es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una amenaza mundial. Se calcula que en el mundo existen más de 180 millones de personas con diabetes y es probable que esta cifra aumente a más del doble para 2030. En 2005 se registraron 1.1 millones de muertes debidas a la diabetes, de las cuales alrededor de 80% ocurrieron en países de ingresos bajos o medios, que en su mayoría se encuentran menos preparados para enfrentar esta epidemia.

En México, la DM ocupa el primer lugar en número de defunciones por año, tanto en hombres como en mujeres las tasas de mortalidad muestran una tendencia ascendente en ambos sexos con más de 70 mil muertes y 400,000 casos nuevos anuales. La DM es un padecimiento complejo que lleva implícito una serie de



situaciones que comprometen el control en los pacientes, lo cual favorece el desarrollo de complicaciones, con los consecuentes trastornos en la calidad de vida, muertes prematuras e incremento en los costos de atención y tasas de hospitalización.

Se define como una enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, y que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas. ^[65]

2.5.1 Clasificación

2.5.1.1 Diabetes tipo 1

La DM1 es una enfermedad metabólica que se caracteriza por la absoluta deficiencia de insulina, esta deficiencia se puede producir por varias circunstancias:

La destrucción autoinmune de las células pancreáticas productoras de insulina o Diabetes tipo 1A. La patogénesis de esta resulta de la interacción entre factores genéticos y ambientales que alteran el sistema inmune y culmina en la destrucción de las células β pancreáticas. Se caracteriza por la presencia de auto-anticuerpos contra los islotes, con destrucción selectiva de las células β .

La destrucción de las células β sin clara evidencia de autoinmunidad o Diabetes tipo 1B o idiopática. Se reserva para las formas que cursan con una carencia fluctuante de insulina sin signos de autoinmunidad con las células β . ^[66]

2.5.1.2 Diabetes tipo 2

Es un trastorno metabólico poligénico y multifactorial en el que se dan dos hechos fundamentales; por una parte, la resistencia de tejidos como el músculo, hígado y tejido adiposo a la acción de la insulina y, por otra, una disfunción que también puede ser progresiva de las células β -pancreáticas. ^[66]



Se presenta resistencia a la insulina y en forma concomitante una deficiencia en su producción, puede ser absoluta o relativa. Los pacientes suelen ser mayores de 30 años cuando se hace el diagnóstico, son obesos y presentan relativamente pocos síntomas clásicos. ^[65]

Desde el punto de vista fisiopatológico, la DM2 se puede subdividir en: predominantemente insulino resistente con deficiencia relativa de insulina y predominantemente con un defecto secretor de insulina con o sin resistencia a la insulina. ^[67]

2.5.2 Diagnóstico

Se establece el diagnóstico de prediabetes cuando la glucosa en ayuno es igual o mayor a 100 mg/dL y menor a 125 mg/dL y/o cuando la glucosa dos horas post-carga oral de 75 g de glucosa anhidra es igual o mayor a 140 mg/dL y menor o igual a 199 mg/dL.

Se establece el diagnóstico de diabetes si se cumple cualquiera de los siguientes criterios: presencia de síntomas clásicos y una glucemia plasmática casual mayor a 200 mg/dL; glucemia plasmática en ayuno mayor o igual a 126 mg/dl; o bien glucemia mayor o igual a 200 mg/dL a las dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua. ^[65]

	Tipo 1	Tipo 2
Edad de inicio	Menor de 30 años	Mayor de 40 años
Cetoacidosis	Frecuente	Rara
Peso corporal	No obeso	Obeso
Anticuerpos circulantes a las células β	Si	No
Tratamiento con insulina	Siempre	Por lo general no necesario
Secreción de insulina	Deficiencia severa	Variable
Resistencia a la insulina	Ocasional	Común

Tabla 8 Algunas características que diferencian a la DM1 y DM2 ^[46]



2.5.3 Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina (RI) es una disminución de la respuesta biológica a la actividad de esta hormona, que ocurre debido a la reducción en la expresión del transportador de glucosa sensible a la insulina, GLUT 4, y en la captación de glucosa seguida por una disminución en el metabolismo no oxidativo de la glucosa y en la síntesis de glucógeno. En el síndrome de RI e hiperinsulinemia hay incremento de la síntesis de colesterol de baja densidad (LDL) y se acelera el catabolismo de las HDL o colesterol de alta densidad. Esta se encuentra asociado a la obesidad de predominio abdominal y a la DM2. Otros factores reportados como causantes de la RI son estrés en el retículo endoplásmico, acumulación de subproductos tóxicos por la sobrecarga nutricional en tejidos sensibles a insulina como adipocitos, hepáticos, el músculo esquelético y las células β pancreáticas. ^[68]

2.5.4 Páncreas

El páncreas endocrino está compuesto de grupos de células denominados islotes de Langerhans, distribuidos en todo el páncreas exocrino. En el páncreas humano existen más de 1000000 de islotes, muchos de los cuales contienen varios cientos de células. El páncreas endocrino tiene gran capacidad de reserva; se debe perder más de 70% de las células β antes de que tenga lugar la disfunción. En los islotes existen cuatro tipos de células, cada uno de los cuales elabora un producto impórtate y diferente. ^[46]

Tipo de célula	Secreción
Células α	Glucagón, pro glucagón, péptidos parecidos al glucagón
Células β	Insulina, péptido C, proinsulina, ácido y aminobútrico (GABA)
Células δ	Somatostatina
Células F o PP	Polipéptido pancreático

Tabla 9 Tipos celulares en los islotes pancreáticos de Langerhans ^[46]



2.5.5 Insulina

2.5.5.1 Síntesis y metabolismo

La insulina es una proteína compuesta por dos cadenas peptídicas (cadena A y B) conectadas mediante dos enlaces bisulfuro. El precursor de la insulina la preproinsulina, se sintetiza en los ribosomas e ingresa al retículo endoplásmico de la célula β y en este rápidamente es dividido por enzimas microsómicas para formar la proinsulina. La proinsulina, que consta de las cadenas A y B unidas por un péptido C de 31 aminoácidos, se trasporta al aparato de Golgi y en este se deposita en vesículas secretoras. Durante su estancia en las vesículas se divide para formar la insulina. Por lo tanto, la secreción de la insulina se acompaña de la secreción del péptido C.

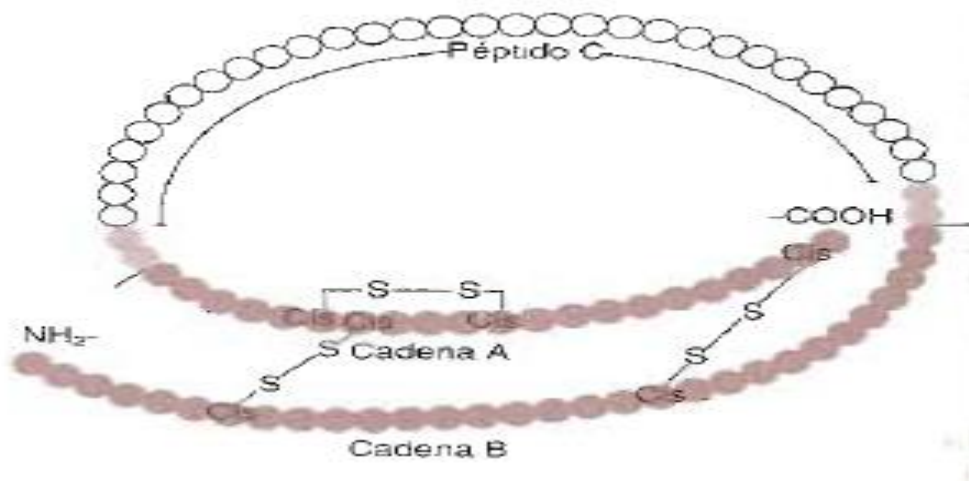


Imagen 7 Secuencia de los aminoácidos y estructura de la proinsulina humana ^[68]

La insulina humana sólo difiere en 1 o 3 aminoácidos de las insulinas porcina y vacuna, respectivamente. Las preparaciones de estas hormonas se utilizaron para el tratamiento de la diabetes antes de la disponibilidad de insulina recombinante humana. La insulina tiene una vida media en la circulación de 3 a 5 min y se cataboliza en el hígado y en el riñón. ^[68]



2.5.5.2 Mecanismo de acción

La insulina ejerce su efecto al unirse a los receptores de insulina presentes en la superficie de las células blanco. Los receptores de insulina están presentes en el hígado, músculo y grasa.

El enlace de la insulina a su receptor produce la activación de una región de tirosina cinasa en el receptor y la autofosforilación de una red de proteínas de unión que implican y amplifican las moléculas señaladoras en sentido descendente, ocasionando finalmente los efectos biológicos de la insulina.

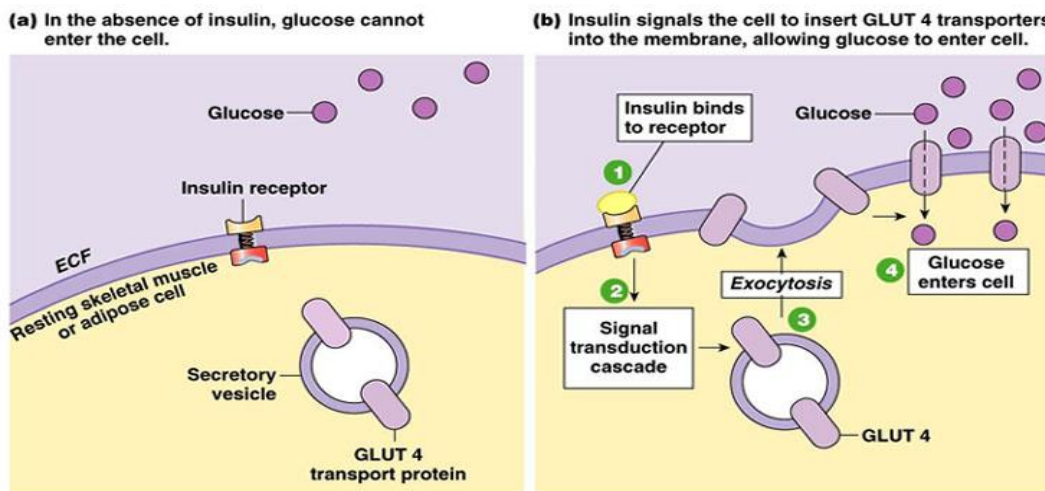


Imagen 8 Modelo del mecanismo de acción de la insulina ^[69]

2.5.6 Tratamiento

Los hipoglucemiantes orales son una serie de compuestos antidiabéticos con estructura química y mecanismos de acción diferentes. Todos ellos pueden administrarse por vía oral. ^[69]

El tratamiento farmacológico de esta enfermedad se ha ampliado y diversificado de manera importante en los últimos años, de tal forma que actualmente se cuenta con gran variedad de medicamentos útiles para el control de DM, sin embargo, aún no se ha podido alcanzar en la mayoría de los pacientes los niveles deseados de glucemia. Por ello se debe insistir en la modificación de estilos de vida y la realización de ejercicio físico, aunado a la toma o aplicación del medicamento correspondiente. ^[70]



2.5.7 Tratamiento oral de la DM

2.5.7.1 Estimulantes de la secreción de insulina

2.5.7.1.1 Sulfonilureas

Tienen un efecto hipoglucemiante agudo actuando sobre la célula β del páncreas mediante un estímulo de la secreción de insulina y un efecto hipoglucemiante crónico mediado por la potenciación de la acción de la insulina, a través de un aumento en el número de receptores para la insulina o de su unión a ellos en los tejidos sensibles a la misma. [71]

Aunque este es su principal efecto y reconocido durante muchos años, recientemente se le atribuye un efecto sobre la inhibición en la formación de glucosa a nivel hepático al reducir en promedio 1.5% de HbA1c. [70]

2.5.7.1.1.1 Glibenclamida

Promueve el aumento de la secreción de insulina por parte de las células β mediante un mecanismo aún no definido. Disminuye la glucogenólisis y la gluconeogénesis hepática. Al parecer aumenta la sensibilidad a la insulina de los tejidos extra pancreáticos. Se produce una disminución de la glucemia sólo en aquellos pacientes capaces de sintetizar insulina; no influye en la producción de insulina por las células β , pero parece potenciar su liberación desde estas. Su vida media es de 10 horas, el tiempo hasta la concentración máxima es de 4 horas; la absorción es rápida y su unión a las proteínas es muy elevada. Se metaboliza en el hígado y sus metabolitos inactivos se excretan por vía biliar (50%) y el resto por el riñón. [72]

2.5.7.1.1.2 Tolbutamida

Produce un aumento de la secreción de insulina y una reducción del umbral de sensibilidad a la glucosa de las células β y por sus efectos extra pancreáticos reduce la insulino-dependencia de los tejidos periféricos. Luego de su administración oral se absorbe en forma completa por la mucosa digestiva, iniciando su efecto de 1 a 2 horas. Posee una vida media de 5 horas, una elevada



ligadura proteica y una amplia biodisponibilidad. Sufre una activa biotransformación metabólica hepática siendo su eliminación renal (85%) y biliar (9%).^[73]

2.5.7.2 *Metaglitinidas*

Actúan estimulando la secreción de insulina, por inhibición de los canales de potasio dependientes de ATP de las células β . Aportan la ventaja de tener un comienzo de acción rápido (30 min) y de corta duración.^[71]

2.5.7.3 *Disminuyen la resistencia a la insulina*

2.5.7.3.1 Biguanidas

Conocidas en Europa desde los años 50, consiguen su efecto anti hipoglucemiante a través de acciones extra pancreáticas, sobre todo por disminución de la liberación hepática de glucosa, junto a otras aun no bien conocidas. La magnitud del descenso de la glucemia es similar al de las sulfonilureas, tanto en presencia como en ausencia de obesidad.^[71]

Su principal efecto secundario es la acidosis láctica (1 de cada 10000 casos), trastornos gastrointestinales diversos, mala absorción de vitamina B12.^[70]

2.5.7.3.2 Glitazonas

Son fármacos agonistas PPAR-gama (peroxisome proliferator-activated receptor gamma). Actúan a través de la activación del receptor PPAR-gamma reduciendo con ello la resistencia a la insulina.^[71]

2.5.7.4 *Inhibidores de α -glucosidasas*

Actúan inhibiendo las α -glucosidasas intestinales (maltasas, sacarosas, dextrinas, glucoamilasas) presentes en las vellosidades intestinales, que son las enzimas que actúan en el desdoblamiento de la sacarosa, maltosa y otros oligosacáridos en monosacáridos. El resultado es una demora en la digestión de los hidratos de carbono con reducción de los picos glucémicos postprandiales.^[71]



2.5.7.5 Tiazolidinediona

Actúa a nivel muscular y hepático al disminuir la resistencia a la insulina, y en menor medida, reduce la glucosa hepática. ^[71]

2.5.7.6 Inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (incretinas)

Es una nueva familia terapéutica, actualmente en el mercado como Sitagliptina.

Las hormonas incretinas GLP-1 y GIP se liberan en el intestino durante todo el día; sus concentraciones aumentan en respuesta a la comida.

La actividad de la GLP-1 y el GIP está limitada por la enzima DPP-4, que inactiva rápidamente las incretinas.

Como inhibidor de la DPP-4, Sitagliptina actúa en los pacientes con DM2 retrasado la inactivación de las incretinas y mejorando así la función secretada de insulina de la célula β pancreática. Esta respuesta se produce de manera dependiente de los niveles de glucosa por lo que el riesgo de hipoglucemias se encuentra significativamente disminuido.

Sitagliptina aumenta las concentraciones de las hormonas intactas activas y con ello incrementa y prolonga la acción de estas hormonas, lo que finalmente disminuye la glucemia en las situaciones de ayuno postprandial. ^[71]

2.5.8 Tratamiento parenteral de la DM

2.5.8.1 Agonista del péptido 1 similar al glucagón (exentado)

El péptido-1 es de origen natural, se produce por las células del intestino delgado, y potencia la secreción de insulina estimulada por glucosa.

El exentado-IV se une al receptor GLP1 en la célula β y aumenta la secreción de insulina mediada por la glucosa. ^[70]

2.5.8.2 Agonistas de la amilina (pramLintida)

Es un análogo sintético de la amilina, hormona secretada por las células β . Ocasiona una disminución de la secreción de glucagón, retrasa el vaciamiento



gástrico con lo que produce un descenso de la glucosa postprandial. Inhibe la producción de glucagón de manera dependiente de glucosa y predominantemente reduce las excursiones de glucosa postprandial. ^[70]

2.5.9 Plantas hipoglucemiantes

Varias especies vegetales han demostrado tener propiedades hipoglucemiantes, esta cualidad ha generado un aumento de los remedios tradicionales a base de plantas y de la investigación de sus propiedades usando para su estudio modelos animales *in vitro*.

Dentro de los tratamientos tradicionales con plantas para la diabetes, existe una riqueza oculta de los productos naturales potencialmente útiles, sin embargo, con pocas plantas se han realizado estudios científicos.

En México se tienen reportadas 306 especies con efecto hipoglucemiante pertenecientes a 235 géneros y 93 familias donde la familia *Asteracea* presenta la mayoría con 47 especies, seguida de *Fabaceae* (27), *Cactaceae* (16), *Solanaceae* y *Euphorbiaceae* (10) y *Laminaceae* (9); pero esta cifra puede variar debido a la falta de documentación, registro y estudio de un gran número de especies. ^[74]



3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde el siglo XVI hasta nuestros días se ha documentado el uso de *Montanoa tomentosa* como abortivo, siendo aún una planta utilizada para este fin; se sabe que dentro de su metabolismo produce diversos compuestos, sin embargo, no se conoce su efecto, como las lactonas sesquiterpénicas con posible uso antimicrobiano y ácido kaurenico un posible hipoglucemiante. Por otra parte, se desconoce si el uso de infusiones preparadas con esta planta puede producir daño tóxico al organismo, por lo que es necesario evaluar su toxicidad en un modelo sub agudo.

4 HIPÓTESIS

Las lactonas sesquiterpénicas presentes en el extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* podrían generar un daño tóxico debido a la producción de radicales libres, por lo cual también se espera que el extracto sea capaz de inhibir el crecimiento microbiano.

En un estudio independiente de se buscó comprobar si el ácido kaurenico presente en la planta tiene efecto hipoglucemiante.

5 OBJETIVOS

5.1 General

Obtener el extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* y evaluar el efecto tóxico e hipoglucemiantes de este extracto al administrarlo por vía oral a través de una sonda intragástrica a un lote de ratones CD1 determinando el daño en órganos afectados y el control de glucemia a través de una curva de tolerancia a la glucosa, del mismo extracto evaluar la actividad antibacteriana a través de difusión en agar contra cepas bacterianas y fúngicas.

5.2 Específicos

- Obtener el extracto acuoso de *Montanoa tomentosa*.
- Determinar la actividad hipoglucemiante del extracto.



- Realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana del extracto sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*.
- Evaluar los efectos dañinos en órganos tras la administración del extracto en un modelo de toxicidad sub aguda.
- Cuantificar los marcadores respectivos al órgano que fue dañado.

6 MATERIAL Y MÉTODO

6.1 Tipo de estudio

Experimental. Prospectivo. Longitudinal. Comparativo

6.2 Universo de estudio

36 ratones CD1 machos con peso de 25 a 30 gramos.

6.3 Criterios de inclusión

Ratones machos CD1, sanos y con peso de entre 25 a 30 g, exentos de enfermedades.

6.4 Criterios de exclusión

Ratones hembra, ratones con alguna enfermedad o un peso inferior a 25 g

6.5 Criterios de eliminación

Ratones que durante el tiempo de experimentación mueran.

6.6 Variables independientes

- Tratamiento con el extracto acuoso de *Montano tomentosa*
- Tratamiento con solución salina
- Glibenclamida (0.8 mg/Kg)
- Tolbutaminda (40 mg/Kg)
- Cepas bacterianas y fúngicas
- Concentración de glucosa administrada



6.7 Variables dependientes

- Peso inicial y final de los ratones
- Peso de riñones, bazo, hígado y corazón
- Nivel de hiperglucemia en ratones
- Concentraciones de enzimas plasmáticas
- Diámetro de inhibición en medios de cultivo

6.8 Material

Material biológico

- 36 ratones CD1
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Candida albicans*

Material

- 6 jaulas para roedor
- 6 bebederos
- Cajas Petri
- Olla de presión
- Tubos eppendorf
- Tubos falcón
- Celdas UV/VIS
- Mechero Fisher
- Gradillas
- Bisturí
- Sonda intragástrica (Animal feeding needle)
- Asa bacteriológica
- Matraz bola
- Pipetas volumétricas
- Micro pipetas
- Puntas para micro pipeta
- Marcadores indelebles
- Soporte universal
- Embudo tallo largo

Reactivos

- Solución Glucosada al 50%
- Goma ghatti al 1%
- Agua destilada
- Agar Soya tripticaseina (MERCK)
- Agar Sabouraud (MERCK)
- Agar Nutritivo (MERCK)
- Caldo BHI (MERCK)
- Solución salina fisiológica inyectable (PiSA)
- Éter
- Alimento Roden Lab 5001 (Purina)

Equipos e Instrumentos

- Rota vapor (Yamato)
- Balanza analítica (Ohaus Explorer Pro)
- Bascula de dieta (Tecno Cor)
- Sonicador (S&M Ultrasonic Processor)
- Estufa (Shell ab 36.7°C)
- Centrifuga (Hamilton Bell)
- Espectrofotómetro (JENWAY 6350 UV/VIS)
- Baño maría (Yamato Bath BM500)
- Glucómetro (ACU-CHECK Performa)
- Vortex (2 Gene)
- Campana de extracción



6.9 Método

6.9.1 Preparación del extracto

- Se tomaron 179.1g de hojas secas de *Montano tomentosa*, se lavaron a chorro de agua para eliminar basura y tierra.
- Se licuaron las plantas hasta obtener una mezcla homogénea, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 4 L con tapón, y se completó un volumen de 2 L con agua destilada.
- Se dejó en reposo durante 4 días en cuarto frío.
- La mezcla obtenida se filtró por gravedad a través de una gasa.
- Se eliminó el disolvente (agua) por calentamiento (60 °C) a presión reducida, hasta obtener un concentrado con el mínimo de humedad.
- El concentrado obtenido se transfirió en un vaso de precipitados y se colocó en una estufa a 37 °C durante 2 semanas hasta obtener el extracto seco.
- Se obtuvo el extracto y se pulverizó en un mortero, se pesó y se obtuvo el rendimiento. Se colocó en refrigeración. ^[75]

6.9.2 Preparación de reactivos para ensayo

hipoglucemiante

- Para el grupo control se usó solución salina fisiológica PiSA
- Para los controles positivos, se prepararon suspensiones de goma Ghatti al 1% calentando en ciclo de 10 a 15 segundos en microondas. En esta se disolvieron dos fármacos hipoglucemiantes de referencia: Glibenclamida a una dosis de 0.8 mg/Kg y Tolbutaminda a dosis de 40mg/Kg. ^[76]
- Se preparó una solución del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* a dosis de 150, 75 y 37.5 mg/Kg para cada grupo de experimentación.
- Se preparó una solución glucosada al 50% a una dosis de 2g/Kg. ^[75,77]



6.9.3 Ensayo hipoglucemiante

La atención de los animales y el proceso experimental se llevó a cabo de acuerdo a la guía para el cuidado y manejo de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-200-199).

- Los ratones se sometieron a un periodo de ayuno de 16 horas antes del ensayo. Los 36 ratones se distribuyeron al azar en 6 grupos de 6 animales, se marcaron y se pesaron individualmente cada ratón, conformando los siguientes grupos:

Grupo	Nombre del grupo/tratamiento/dosis
1	Solución salina (testigo negativo)
2	Extracto acuoso de Zoapatle (37.5mg/Kg)
3	Extracto acuoso de Zoapatle (75mg/Kg)
4	Extracto acuoso de Zoapatle (150mg/Kg)
5	Control positivo Glibenclamida (0.8 mg/Kg)
6	Control positivo Tolbutamida (40 mg/Kg)

Cuadro 1 Grupos de ratones para el ensayo hipoglucemiante

- Se midió la glucosa basal al tiempo 0, por un corte de la parte distal de la cola de los ratones para obtener la glucemia basal de todos los grupos, utilizando un glucómetro Accu-Check® Performa.
- Se administró con la ayuda de una sonda por vía oral los diferentes tratamientos, para el grupo 1 se administró un volumen constante de 0.2 mL de solución salina 0.85%. Para los grupos experimentales se administraron los volúmenes calculados del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* para la dosis de 37.5, 70 y 150 mg/kg al grupo 2, 3 y 4 respectivamente. Posteriormente se administraron los volúmenes calculados de Glibenclamida (0.8 mg/kg) y Tolbutamida (40mg/kg), al grupo 5 y 6 respectivamente.
- Una vez administrados los tratamientos, se les dio primera carga de glucosa de una solución glucosada al 50% vía subcutánea con una dosis de 2g/kg, repartida en dos dosis con un intervalo de tiempo de 1 hora, a todos los grupos al tiempo 0 para la inducción de hiperglucemia.



- Se midió la glucosa al tiempo 1, 2, 3 y 4 (60, 120, 180 y 240 minutos respectivamente) para todos los grupos.
- Con los resultados se buscó comparar el efecto del extracto a sus diferentes concentraciones, el control positivo son los dos fármacos hipoglucemiantes y la solución salina es el control negativo.
- Los resultados se analizaron mediante ANOVA con una confianza al 95% para buscar diferencias estadísticas. ^[75,77]

6.9.4 Ensayo de toxicidad sub aguda

La atención a los animales y el proceso experimental se llevó a cabo de acuerdo a la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio, de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-199).

Procedimiento

- Se distribuyeron 24 ratones CD1 formando 4 grupos de seis animales cada uno, se pesaron y se marcaron los ratones conformando los siguientes grupos:

Número del grupo	Nombre del grupo/tratamiento/dosis
1	Grupo control/ solución salina
2	Grupo experimental/extracto 37.5 mg/Kg de peso
3	Grupo experimental extracto 75 mg/Kg de peso
4	Grupo experimental extracto 150 mg/Kg de peso

Cuadro 2 Grupos de ratones para el ensayo de toxicidad subaguda

- Se administró por sonda gástrica los volúmenes calculados de las diferentes dosis (37.5, 75 y 150 mg/kg) del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* durante 30 días.
- Se observó a los ratones diariamente para identificar alguna anomalía corporal y de comportamiento, se pesaron para observar algún cambio en el peso corporal de cada ratón.



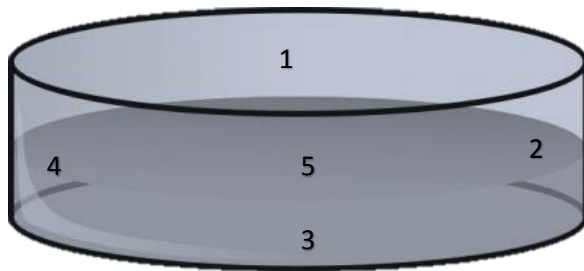
- Después de los 30 días se pesaron los ratones una última vez antes de realizar el sacrificio de estos.
- Se sacrificaron los animales por medio de un corte en el plexo axilar con la previa anestesia de éter.
- Se extrajeron los órganos: Corazón, hígado, riñones y bazo. Se pesaron cada uno de ellos para obtener la relación de peso órgano/ratón. Se recolecto una muestra de sangre para analizar enzimas plasmáticas.
- Por medio del programa estadístico SPSS se realizó un análisis ANOVA para identificar diferencias significativas entre las medias de los índices [75,77]

6.9.5 Prueba de actividad antibacteriana y antimicótica

- Se preparó una solución 1×10^5 de cada bacteria a utilizar *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y del hongo *Cándida albicans* con solución salina estéril.
- Se ajustaron al tubo uno de la escala de Mc Farland para obtener una concentración de 3×10^8 UFC/mL.
- De esta se tomaron 0.1 mL y se llevaron a 10 mL con solución salina estéril para obtener una concentración de 3×10^6 UFC/mL.
- De esta nueva solución se tomaron 0.1 mL y se llevaron a 1 mL con solución salina estéril para obtener 3×10^5 UFC/mL.
- Por último, se tomó 1 mL y se llevó a 3mL con solución salina estéril para obtener 1×10^5 UFC/mL
- Después se prepararon disoluciones de 0.500 mg/mL, 0.250 mg/mL y 0.125 mg/mL del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* pulverizado con agua destilada.
- Se preparó una disolución cirpofloxaciono y terbinefina a una concentración de 0.100 mg/0.100 mL como control positivo y como control negativo se usó solución salina.
- Se prepararon placas de agar nutritivo y agar sabouraud usando 25mL de cada agar para cada caja.



- Se inoculo con cada una de la suspensión de bacterias sobre la superficie del agar nutritivo y la sepa de *C. albicans* se inoculo sobre agar sabouraud; se realizaron cinco pozos de 10 mm en la caja con agar, en cada pozo se adicionaron 0.050 mL de cada disolución, usando terbinafina en caso de hongos y ciprofloxacino en bacterias.
- Se incubo a 37 °C y se observará el tamaño de la zona de inhibición de crecimiento a las 24 y 48 horas y se registraran resultados.^[78]



1.- Fármaco de referencia
(terbinafina o ciprofloxacino)

2.- Extracto 500mg/mL

3.- Extracto 250mg/mL

4- Extracto 125mg/mL

5.- Solución salina



Para realizar la comparación de las medias de los grupos de experimentación tanto para el efecto hipoglucemiante y toxicidad sub aguda se realizó un análisis de varianza (ANOVA), seguido de la prueba de Tukey. Se consideró una confianza de 95% utilizando el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 21.

Se partió de dos hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): las medias de los grupos de tratamiento y control son iguales cuando se obtiene un valor de significancia mayor o igual a 0.05.
- Hipótesis alterna (H_a): las medias de los grupos de tratamiento y control son diferentes cuando se obtiene un valor de significancia menor o igual a 0.05.

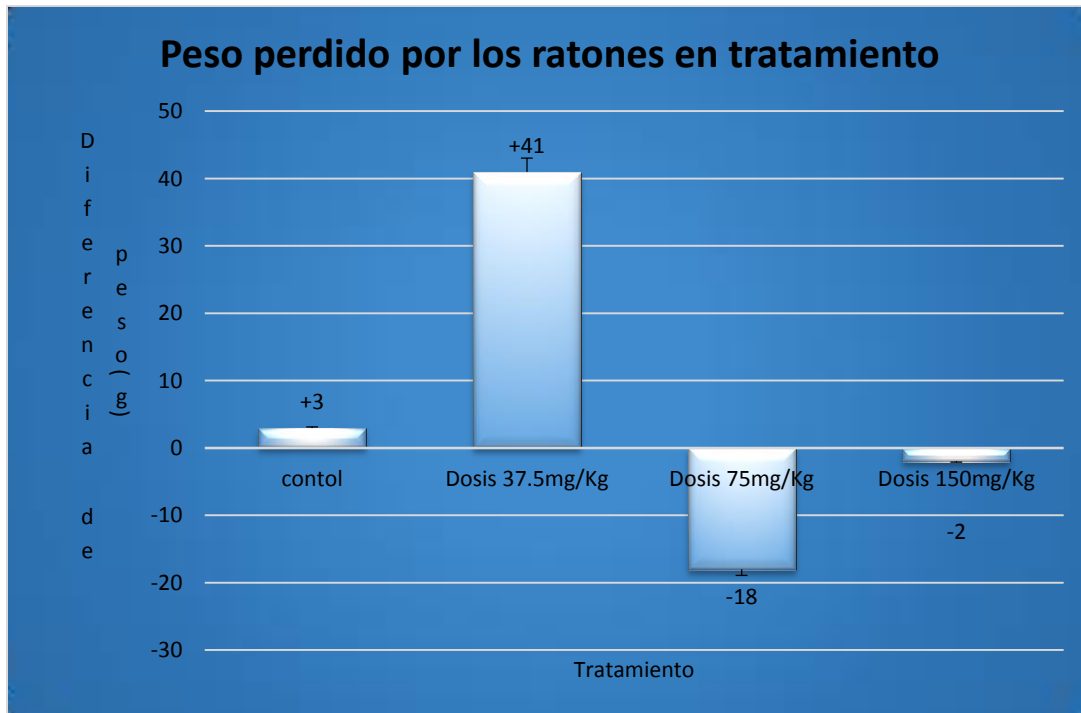
Extracto

A partir de 179.1g de *Montanoa tomentosa* se obtuvo un extracto solido en polvo color café con peso de 22.5904 g, obteniendo finalmente un rendimiento de extracción de 12.61%.

Disminución de peso

Para determinar la disminución de peso en los ratones, se tomaron los pesos iniciales y finales. Se encontraron diferencias significativas a las dosis de 75 y 150 mg/kg donde bajaron de peso contrastando con la solución salina y la dosis de 37.5 donde el peso incremento.





Gráfica 1 Peso perdidos por los ratones en tratamiento

Ensayo de toxicidad

Desde el primer día de administración del extracto se observó que aproximadamente a los 20 minutos de la administración los ratones tratados presentaron falta de movimiento, somnolencia y agrupamiento.

A los 20 días de administración un ratón del grupo tratado a dosis de 150 mg/Kg presento hipotermia, adinamia y somnolencia, muriendo a los 25 días de tratamiento.



Imagen 10 Ratones al tiempo 0 de la administración de cada dosis. Presencia de movimiento.





Imagen 11 Ratones a los 20 minutos de administración. Presencia de adinamia, somnolencia y agrupamiento en los grupos tratados.

Índice órganos

Pasados 45 días de administración, se procedió al sacrificio de los ratones y la obtención de órganos y sueros de cada uno; de los órganos se obtuvieron los pesos relativos con la finalidad de hacer un análisis estadístico ANOVA seguido de una prueba de Tukey.

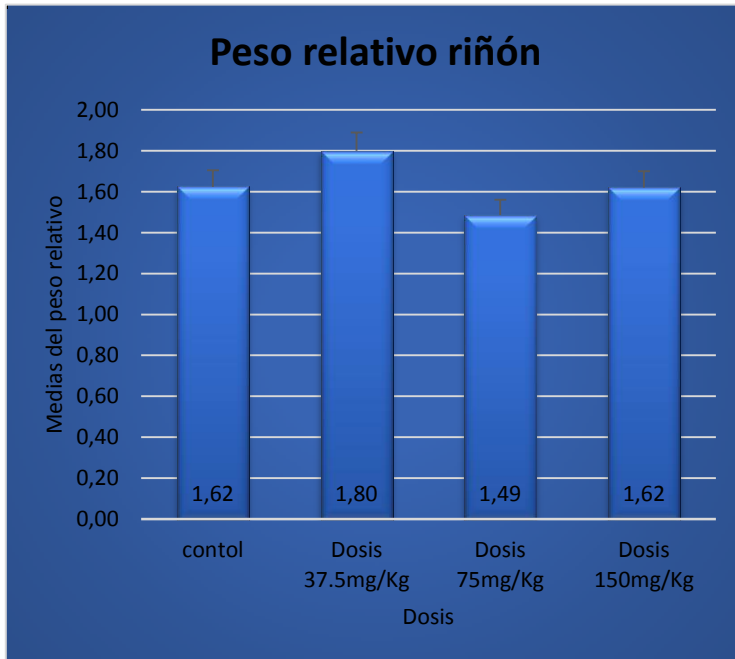
ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Riñon	Inter-grupos	,298	3	,099	20,456	,000
	Intra-grupos	,082	17	,005		
	Total	,380	20			
Higado	Inter-grupos	13,337	3	4,446	5,163	,009
	Intra-grupos	16,361	19	,861		
	Total	29,698	22			
Corazon	Inter-grupos	,005	3	,002	,488	,695
	Intra-grupos	,057	18	,003		
	Total	,061	21			
Bazo	Inter-grupos	,017	3	,006	,306	,821
	Intra-grupos	,345	19	,018		
	Total	,362	22			

Tabla 12 Prueba de ANOVA para los pesos relativos de cada órgano. Se observan diferencias significativas en riñón e hígado.



Riñón



Gráfica 2 Comparación del peso relativo del riñón a diferentes dosis. $P=0.003$ Control vs Dosis 37.5mg/Kg. $P=0.022$ Control vs 75mg/Kg.

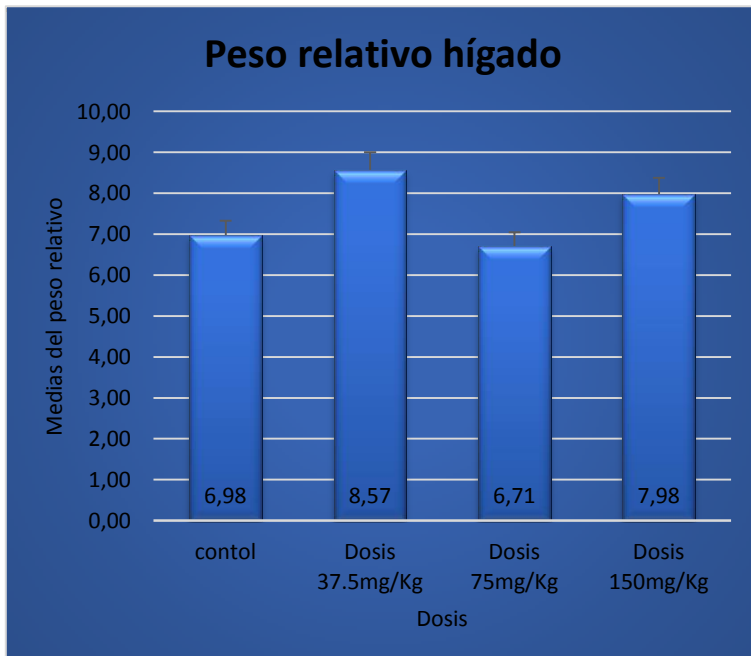
Riñón

HSD de Tukey

Dosis	Subconjunto para alfa = 0.05		
	1	2	3
Dosis 75	1,4853		
Dosis 150		1,6184	
control		1,6223	
Dosis 37.5			1,7991
Sig.	1,000	1,000	1,000

Tabla 13 Prueba de Tukey para riñón. La diferencia de medias es significativa al 0.05%, con el agrupamiento de la dosis a 150 y el grupo control, observándose un aumento en la media a 37.5 mg/Kg y una disminución a la dosis de 75 mg/Kg.

Hígado



Gráfica 3 Comparación del peso relativo del hígado a diferentes dosis. $P=0.036$ Control vs Dosis 37.5 mg/Kg.

Hígado

HSD de Tukey

Dosis	Subconjunto para alfa = 0.05	
	1	2
Dosis 75	6,7122	
control	6,9796	
Dosis 150	7,9774	7,9774
Dosis 37.5		8,5716
Sig.	,132	,704

Tabla 14 Prueba de Tukey Hígado. La diferencia de medias es significativa al 0.05%, con el agrupamiento de las dosis a 150 y 37.5 mg/Kg, mostrando un incremento de peso del órgano.



Corazón y bazo



Gráfica 4 Comparación del peso relativo del corazón y bazo a diferentes dosis. No se observan diferencias significativas.

Perfiles

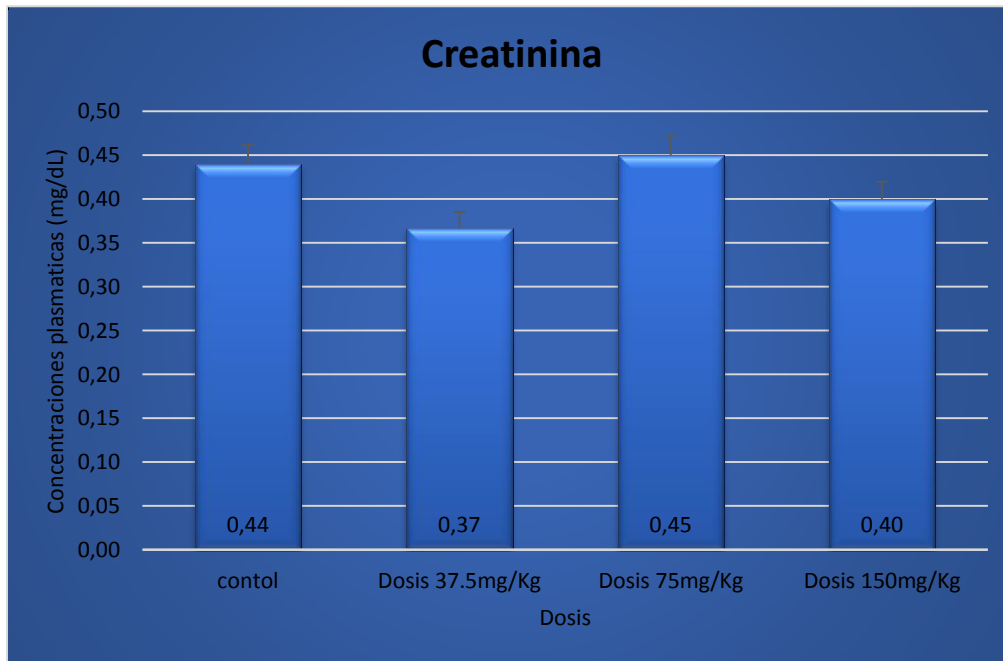
Perfil renal

ANOVA de un factor						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Creatinina	Inter-grupos	.028	3	.009	.797	.511
	Intra-grupos	.222	19	.012		
	Total	.250	22			
BUN	Inter-grupos	562.375	3	187.458	5.934	.005
	Intra-grupos	600.250	19	31.592		
	Total	1162.625	22			
Urea	Inter-grupos	2624.645	3	874.882	6.406	.004
	Intra-grupos	2594.833	19	136.570		
	Total	5219.478	22			

Tabla 15 Prueba de ANOVA para las concentraciones de enzimas presentes en el perfil hepático. Se observan diferencias en las concentraciones de urea y BUN.

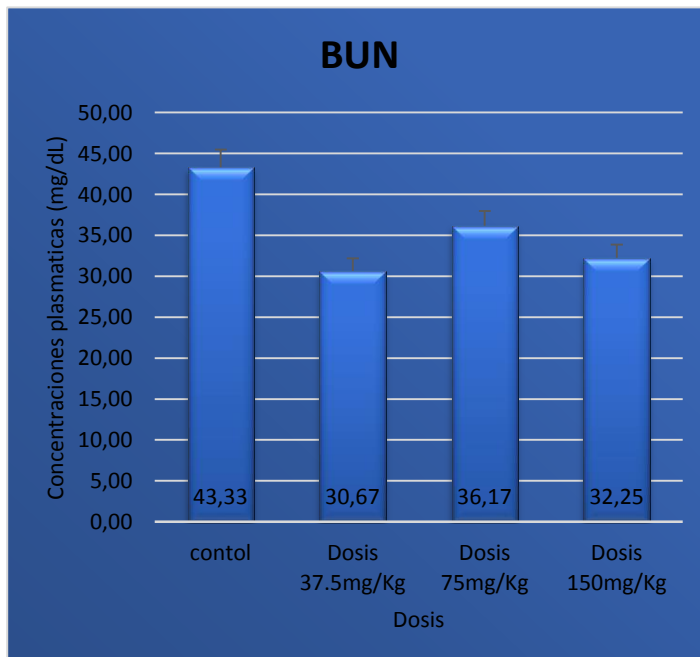


Creatinina



Gráfica 5 Comparación de las concentraciones de creatinina presentes a las diferentes dosis tratadas. No se observan diferencias significativas.

BUN



Gráfica 6 Comparación de la relación BUN en los diferentes tratamientos. $P=0.005$ Control vs Dosis 37.5mg/Kg. $P= 0.020$ Control vs Dosis 150 mg/Kg.

BUN

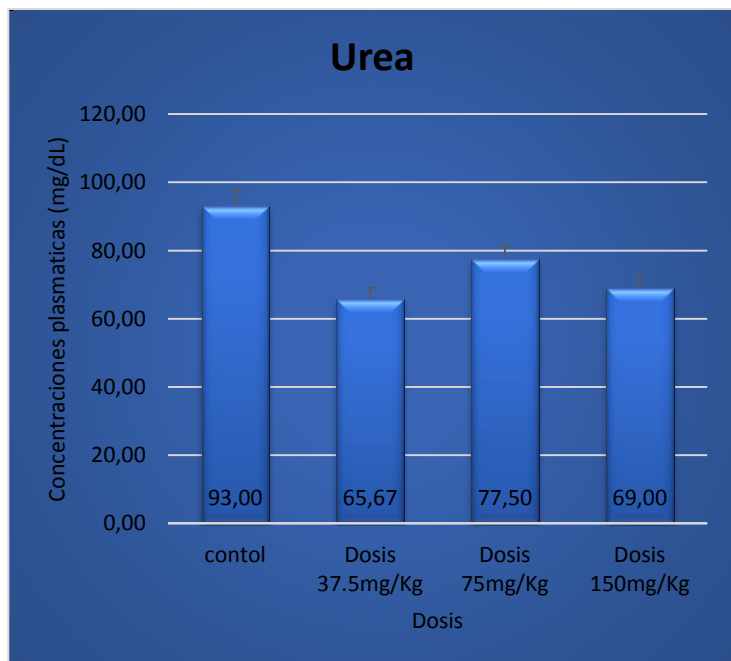
HSD de Tukey

Grupo	Subconjunto para alfa = 0.05	
	1	2
Dosis 37.5	30.6667	
Dosis 150	32.2500	
Dosis 75	36.1667	36.1667
control		43.3333
Sig.	.374	.172

Tabla 16 Prueba de Tukey para BUN. La diferencia de medias es significativa al 0.05% con el agrupamiento de las dosis del extracto mostrando una disminución en las concentraciones de la relación BUN.



Urea



Gráfica 7 Comparación de la concentración de urea en los diferentes tratamientos. $P=0.003$ Control vs Dosis 37.5 mg/Kg. $P=0.015$ Control vs Dosis 150 mg/Kg.

Urea

HSD de Tukey

Grupo	Subconjunto para alfa = 0.05	
	1	2
Dosis 37.5	65.6667	
Dosis 150	69.0000	
Dosis 75	77.5000	77.5000
control		93.0000
Sig.	.345	.148

Tabla 17 Prueba de Tukey para urea. La diferencia de medias es significativa al 0.05% con el agrupamiento de las dosis del extracto mostrando una disminución en las concentraciones de urea.

Perfil Hepático

Se usó una significancia al 0.1 debido a que a 0.05 no se observaron diferencias; se buscó comprobar si hay daño, ya que los índices de peso del hígado sugieren un aumento en el tamaño del órgano a dosis de 37.5 y 150 mg/Kg.

ANOVA de un factor

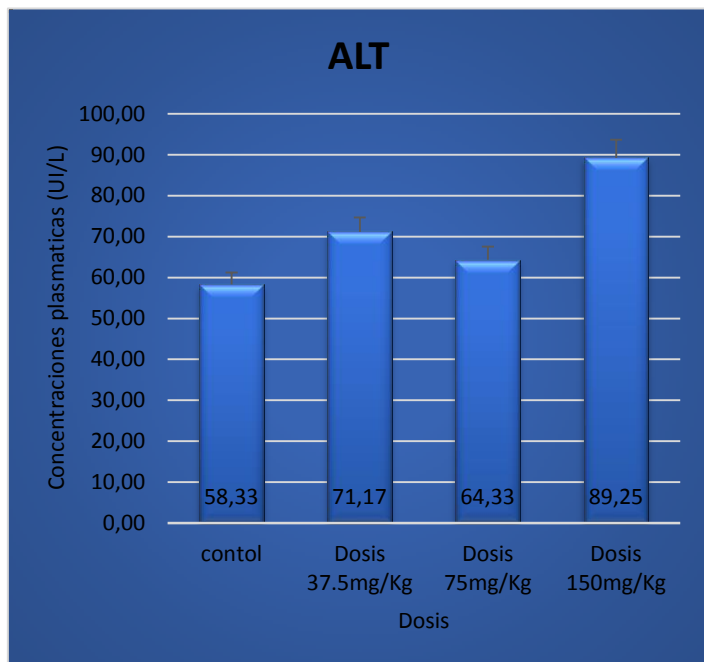
ALT

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2870.288	3	956.763	2.698	.075
Intra-grupos	6738.250	19	354.645		
Total	9608.538	22			

Tabla 18 Prueba de ANOVA para ALT. Se observan diferencias a una significancia de 0.1.



ALT



Gráfica 8 Comparación de la concentración de ALT en los diferentes tratamientos. $P= 0.061$ Control vs Dosis 150 mg/Kg.

ALT

HSD de Tukey

Grupo	Subconjunto para alfa = 0.1	
	1	2
control	58.3333	
Dosis 75	64.3333	64.3333
Dosis 37.5	71.1667	71.1667
Dosis 150		89.2500
Sig.	.663	.149

Tabla 19 Prueba de Tukey para ALT. La diferencia de medias es significativa al 0.1% con el agrupamiento de las dosis del extracto mostrando un aumento en las concentraciones de ALT.



Ensayo hipoglucemiante

Se realizó un ensayo hipoglucemiante a 35 ratones CD1, se formaron 6 grupos; los grupos 1 y 2 conformaron al control positivo usando glibenclamida y tolbutamida respectivamente, el grupo 3 se usó como control negativo al administrar solución salina y los grupos 4,5 y 6 se les administro el extracto acuoso a concentraciones de 37.5, 75 y 150 mg/Kg respectivamente.

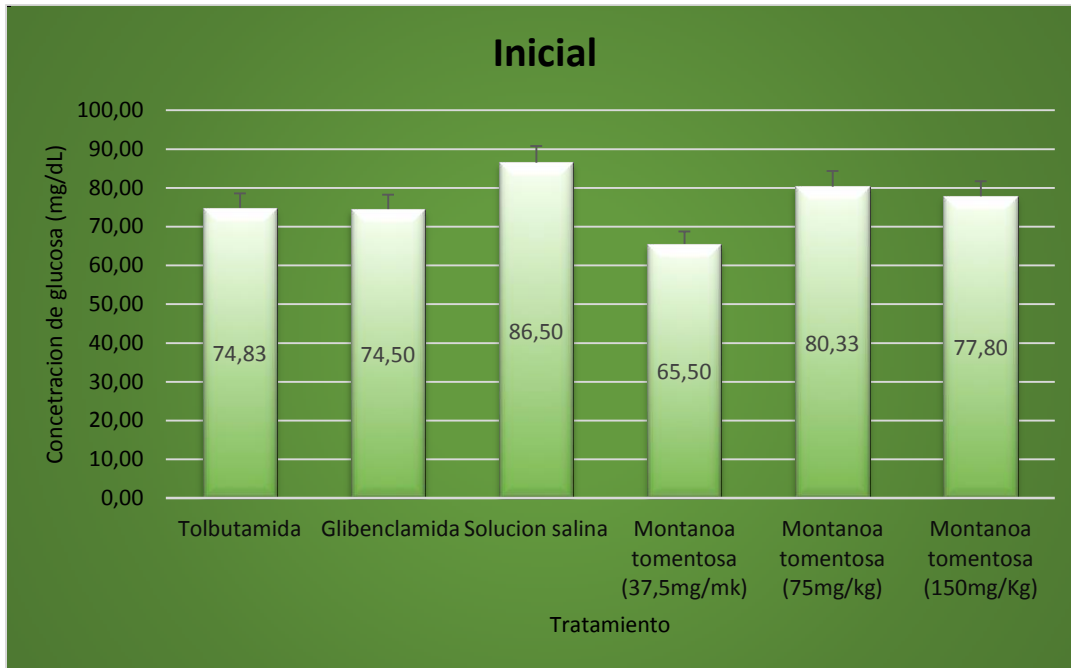
ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 minutos	Inter-grupos	1463.219	5	292.644	1.618	.187
	Intra-grupos	5245.467	29	180.878		
	Total	6708.686	34			
60 minutos	Inter-grupos	25355.242	5	5071.048	5.295	.002
	Intra-grupos	25855.667	27	957.617		
	Total	51210.909	32			
120 minutos	Inter-grupos	22655.315	5	4531.063	7.557	.000
	Intra-grupos	16188.200	27	599.563		
	Total	38843.515	32			
180 minutos	Inter-grupos	1868.138	5	373.628	1.393	.256
	Intra-grupos	7776.033	29	268.139		
	Total	9644.171	34			

Tabla 20 Prueba de ANOVA para el ensayo hipoglucemiante. Se observan diferencias significativas a los 60 y 120 minutos.

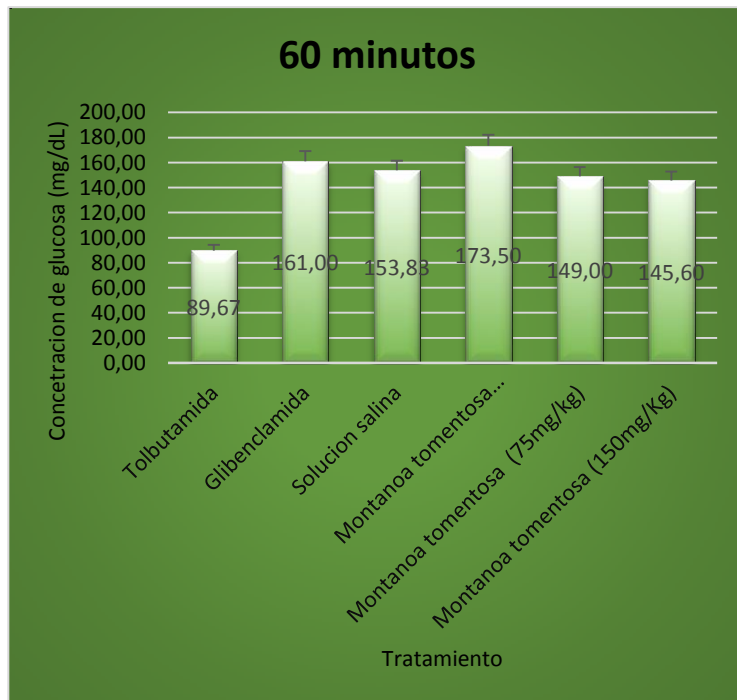


Tiempo 1 (inicial)



Gráfica 9 Comparación de los valores de glucosa al tiempo 0.

Tiempo 2 (60 minutos)



Gráfica 10 Comparación de los valores de glucosa a los 60 minutos. $P=0.006$ Glibenclamida vs Tolbutamida. $P=0.017$ Tolbutamida vs Solución salina. $P=0.001$ Tolbutamida vs Dosis 37.5 mg/Kg. $P=0.032$ Tolbutamida vs Dosis 75 mg/Kg.

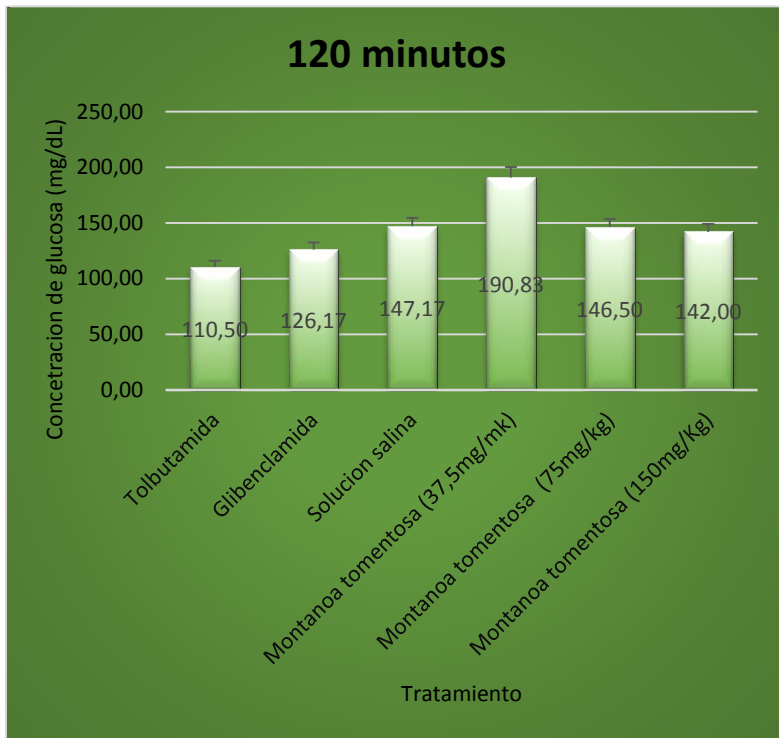
60 minutos

HSD de Tukey

Tratamiento	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2
tolbutamida	89.6667	
Dosis 150	145.6000	145.6000
dosis 75		149.0000
Control		153.8333
Glibenclamida		161.0000
dosis 37.5		173.5000
Sig.	.054	.665

Tabla 21 Prueba de Tukey para el ensayo a los 60 min. Se observa la formación de sub grupos donde todos los tratamientos, solución salina y glibenclamida tienen el mismo efecto.

Tiempo 3 (120 minutos)



120 minutos

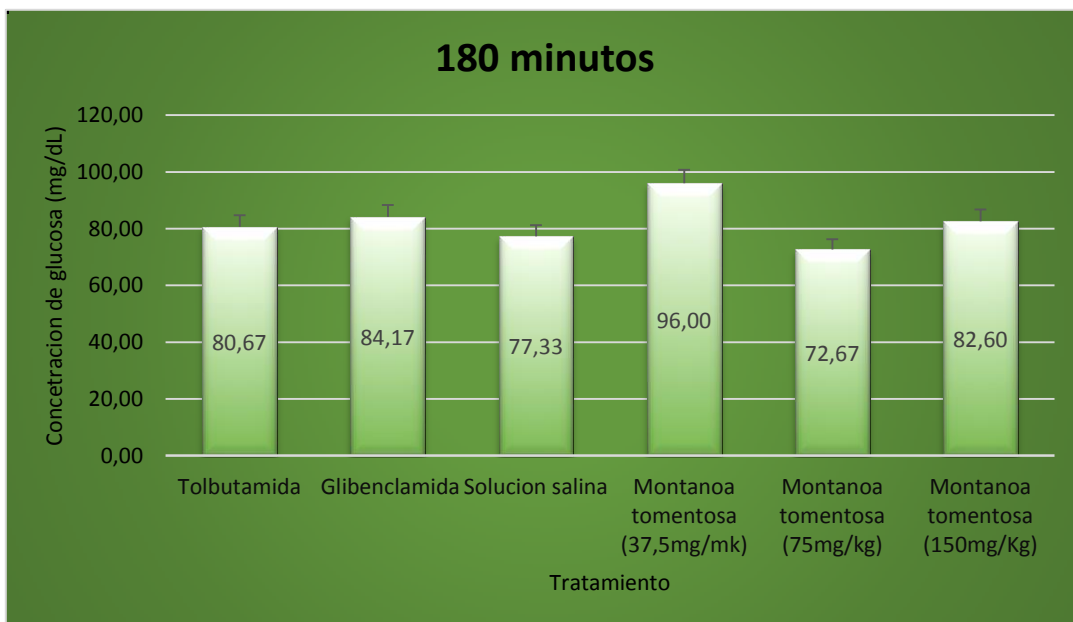
HSD de Tukey

Tratamiento	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2
tolbutamida	110.5000	
Glibenclamida	126.1667	
Dosis 150	142.0000	142.0000
dosis 75	146.5000	146.5000
Control	147.1667	147.1667
dosis 37.5		190.8333
Sig.	.273	.067

Tabla 22 Prueba de Tukey para el ensayo hipoglucemiante a 120 minutos. Se observa la formación de sub grupos donde las dosis de extracto se comportan como el grupo control.

Gráfica 11 Comparación de los valores de glucosa a los 120 minutos.
P=0.001 Tolbutamida vs Dosis de 75 mg/Kg

Tiempo 4 (180 min)



Gráfica 12 Comparación de los valores de glucosa a los 180 min.



Ensayo antimicrobiano

Staphylococcus aureus

Sustancia a probar	Halo de inhibición		
	Caja 1	Caja 2	Caja 3
Extracto 125 µg/mL	-	-	-
Extracto 250 µg/mL	-	-	-
Extracto 500 µg/mL	-	-	-
Ciprofloxacino	22 mm	25mm	23mm

Tabla 23 Diámetros de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* y Ciprofloxacino vs *Staphylococcus aureus*. No se observa inhibición a ninguna dosis probada del extracto.



Imagen 12 Ensayo antibacteriano del extracto de *Montanoa tomentosa* vs *Staphylococcus aureus*. No se observa inhibición alrededor de los pozos donde se encontraba el extracto.



Escherichia coli

Sustancia a probar	Halo de inhibición		
	Caja 1	Caja 2	Caja 3
Extracto 125 µg/mL	-	-	-
Extracto 250 µg/mL	-	-	-
Extracto 500 µg/mL	18mm	14mm	18mm
Ciprofloxacino	41 mm	43mm	40mm

Tabla 24 Diámetros de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Montano tomentosa* y Ciprofloxacino vs *Escherichia coli*. Se observa inhibición de crecimiento a la concentración de 500 µg/mL.

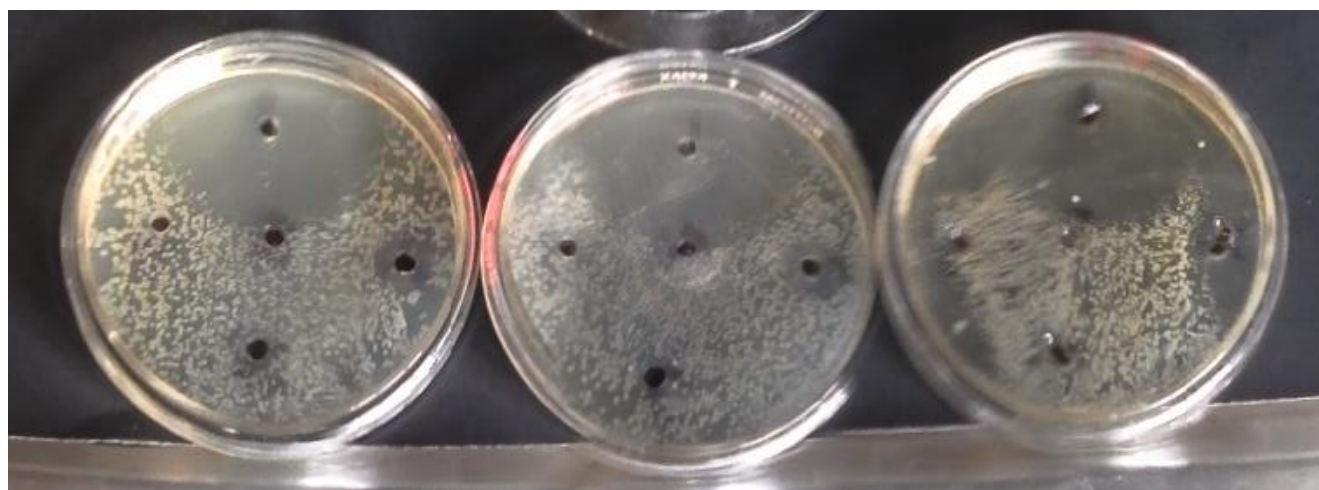


Imagen 13 Ensayo antibacterial del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* vs *Escherichia coli*. Se observa inhibición a la dosis de 500 µg/mL



Cándida albicans

Sustancia a probar	Halo de inhibición		
	Caja 1	Caja 2	Caja 3
Extracto 125 µg/mL	-	-	-
Extracto 250 µg/mL	-	-	-
Extracto 500 µg/mL	-	-	-
Terbinafina	26 mm	29 mm	27mm

Tabla 25 Diámetros de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* y Terbinafina vs *Cándida albicans*. No se observan halos de inhibición.

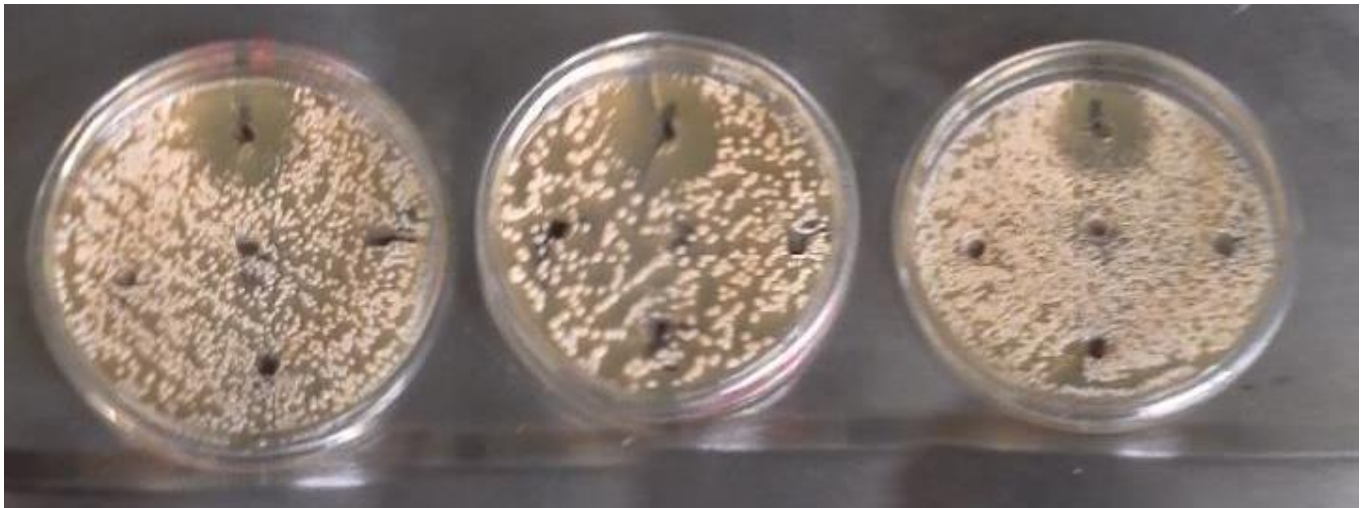


Imagen 14 Ensayo antimicótico del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* vs *Cándida albicans*. No se observan halos de inhibición.



El estudio que se realizó con la planta *Montanoa tomentosa* tuvo como objetivos evaluar sus efectos tóxicos en un modelo con ratones CD1, al administrar por sonda gástrica diferentes concentraciones del extracto acuoso de la planta, además de comprobar su posible efecto hipoglucemiante y antimicrobiano.

En México, *Montanoa tomentosa* es ampliamente usada en forma de decocciones acuosas para facilitar el parto y para evitar la concepción. ^[19] Se realizó un extracto acuoso debido a que se comercializa esta planta con la indicación de que se prepare en agua un té al hervir las hojas de 10 a 20 minutos. ^[25]

Toxicidad sub aguda

Al finalizar el tiempo del ensayo, se registraron los pesos de cada ratón, obteniendo disminuciones en este (Gráfica 1) a las dosis de 75 y 150 mg/Kg. Además, se observaron efectos adversos tras la administración del extracto, ya que a todas las dosis probadas los ratones presentaron somnolencia, adinamia y agrupamiento; sin embargo, sólo a dosis de 150 mg/Kg se presentó muerte en un ratón, con temblores, adinamia e hipotermia antes de su muerte.

En el ensayo acerca de la toxicidad sub aguda de *Montanoa tomentosa* se utilizaron dosis de 37.5, 75 y 150 mg/Kg; se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el peso del hígado y riñones.

En cuanto los riñones se encontraron diferencias significativas respecto al control ($P=0.001$), en la prueba de Tukey, a dosis de 37.5 mg/Kg ($P=0.003$) donde se ve un incremento en el tamaño de los riñones; a dosis de 75 mg/Kg ($P=0.022$) los riñones redujeron su tamaño.

El hígado presentó diferencias con el grupo control ($P=0.009$), observándose en la prueba de Tukey la formación de dos sub grupos, siendo diferentes al grupo control las dosis de 37.5 mg/Kg ($P=0.036$) el cual quedó en el segundo sub grupo, el que comparte con la dosis a 150 mg/Kg, sin embargo, esta dosis se encuentra al mismo tiempo agrupada con el grupo control y el resto de las dosis. Esto debido



a la formación de radicales libres, ya que la concentración de lactonas sesquiterpénicas estimula la formación de ROS por parte de los macrófagos, lo que genera el un daño tóxico y la inflamación de los órganos.

Debido a las diferencias en peso de estos órganos se realizaron pruebas para determinar la función de estos órganos.

Para el riñón se determinó creatinina, la relación BUN y urea. Para creatinina no se encontraron diferencias ($P=0.511$); la relación BUN y urea presentaron diferencias ($P=0.005$, $P=0.004$).

Las pruebas de Tukey para BUN mostraron la formación de dos subgrupos, en el primero se agrupan las 3 dosis experimentadas ya que la relación BUN es una medida indirecta de la función renal y filtración glomerular y en este caso las concentraciones disminuyeron respecto a control, sugiere una insuficiencia renal originada un síndrome nefrótico en el que se eliminan purinas por lo que la concentración de nitrógeno disminuye y con este el valor BUN. ^[70]

La urea presentó diferencias entre los grupos tratados y el control, disminuyendo los valores en los grupos administrados con extracto, se confirma con la prueba de Tukey en la que se forman dos subgrupos donde se agrupan los ratones con tratamiento en el primer grupo, debido a que concentraciones disminuidas de este valor sugieren una atrofia en hígado por una insuficiencia hepática grave lo que induce a que el ácido úrico no se forme y los valores sanguíneos disminuyan. ^[70]

En cuanto al hígado se cuantificó la enzima ALT la cual no se presentó diferencias significativas a un nivel de confianza de 95%, por lo cual se decidió usar un 90% de confianza para observar las diferencias entre grupos; observándose a este intervalo de confianza diferencias ($P=0.075$), tras la prueba de Tukey se formaron dos subgrupos donde el primero se conformó del grupo control, 37.5 y 75 mg/kg, en el segundo se conformó por todas las dosis de extracto, en este grupo se observa un aumento en la concentración de esta enzima respecto al control siendo la más elevada la dosis a 150mg/Kg, por lo cual el comportamiento de las demás dosis no es tan hepatotóxico como la dosis más alta probada. La literatura indica



que concentración elevada de esta enzima es un marcador de una enfermedad hepática ya que esta enzima se encuentra en las células hepáticas que al lesionarse o enfermar se lisan y liberan la ALT al torrente sanguíneo. Esta enzima es un gran indicativo de daño hepático debido a su especificidad. [71]

Ensayo hipoglucemiante

Para poder comprobar el efecto hipoglucemiante de plantas con posibilidad de ejercer esta acción es necesario realizar el ensayo en animales con un páncreas sano, por lo cual se usó un modelo de animales hipoglucémicos y no de animales con daño pancreático inducido con el uso de aloxona o estreptozotocina, ya que estos modelos son usados para diabetes insulínopenica. Este ensayo se realizó con dos hipoglucemiantes como control positivo, los cuales fueron tolbutamida y glibenclamida, el primero tiene efecto en la glucogénesis y el segundo estimula el páncreas por lo cual son usados como control positivo.

Se indujo hiperglucemia a través de una carga de glucosa por vía subcutánea, esto para evitar daño en el páncreas.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis estadístico de ANOVA con el programa SPSS v.21 y posteriormente una prueba post hoc de Tukey.

Al tiempo 0 no se presentaron diferencias estadísticas ($P \geq 0.05$), esto debido a que se trata de la glucemia basal.

Al tiempo 2 (60 min.) se observan diferencias en las concentraciones plasmáticas de glucosa, encontrándose un incremento respecto tolbutamida con todas las dosis y controles; respecto a glibenclamida no se encontraron diferencias significativas a las dosis probadas.

A los 120 minutos, la dosis de 37.5 mg/Kg presentó diferencias respecto a los dos controles positivos, además de incrementar los niveles de glucemia respecto al control de solución salina.



A los 180 minutos no se encontraron diferencias significativas en los grupos tratados, debido a que de nuevo alcanzaron su glucemia basal.

En la prueba Post Hoc de Tukey, se observa que al tiempo 0 se comportan todos de la misma manera, ya que aún no se administran sustancias y se está obteniendo la glucosa basal. A los 60 minutos se observa la formación de dos sub grupos, en donde la tolbutamida tiene una semejanza estadística ($P=0.067$) al extracto a dosis de 150 mg/Kg. La glibenclamida, control y todas las demás dosis se mantienen en el segundo grupo. A los 120 minutos se forman dos sub grupos donde los controles positivos y negativos y las dosis de 150 y 75 mg/Kg se agrupan en el primero y un segundo grupo quedan agrupadas las dosis probadas y el control negativo teniendo una media mayor la concentración a 37.5 mg/Kg. Para los 180 min sólo se forma un grupo donde se alcanza la glucemia basal.

La concentración de 150 mg/Kg a los 60 minutos llama la atención debido a que se comporta de manera similar a la tolbutamida, por lo cual podría tener efecto hipoglucemiante a esta dosis y tiempo, manteniendo la característica de comportarse como los controles positivos a los 120 minutos.

La dosis de 37.5 mg/Kg se comportó de manera hiperglucemiante a los 120 minutos quedando totalmente aparte de los controles positivos, lo cual se observa desde los 60 minutos donde tiene un valor promedio de glucemia superior al resto.

Al observar los resultados se interpreta que el extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* presenta actividad hipoglucemiante semejante a tolbutamida a los 60 minutos a una concentración de 150 mg/Kg y una actividad hiperglucemiante a los 120 minutos a dosis de 37.5mg/Kg, sin embargo, no llegan a diferenciarse completamente del control negativo.

La actividad hipoglucemiante puede deberse a la presencia de ácido entkaurenoico (KA) presente en las hojas del Zoapatle; este ácido es precursor de las giberelinas, el di terpeno biactivo más impórtate de esta planta. Las giberlinas se unen covalentemente a la glucosa, uniéndose a través del grupo carboxilo, formando una giberelina glucósido, o por el grupo hidroxilo, dando lugar a una



giberelina glucosil-eter, por lo cual este extracto impide la absorción de glucosa evitando su incremento en la concentración sanguínea, por lo cual puede ser usado como hipoglucémico, sin embargo, al ser tóxico no se recomienda su uso [79,80]

Ensayo antibacterial

Debido a que algunas de las plantas de la familia *Asteracea* presentan lactonas sesquiterpénicas con posibles efectos antibacteriano y antimicóticos se realizó un ensayo antibacterial. Por ello se evalúa la capacidad antimicrobiana del extracto usando un método por difusión en pozos, el extracto se colocó a diferentes concentraciones y se retaron contra *Escherichia coli* (Gram negativo), *Staphylococcus aureus* (Gram positivo) y *Cándida albicans* (levadura). Se observó un halo de inhibición a la concentración de 500 µg/mL frente a *Escherichia coli*, sin embargo, no se observó inhibición frente a *S. aureus* ni contra *C. albicans*.

La mayor sensibilidad de la bacteria Gram negativa con respecto a las Gram positivas puede ser explicada por los posibles mecanismos de daños a la membrana bacteriana debido al incremento de su permeabilidad y la afectación de su estructura. Este daño se genera por la desestabilización de la capa bi lipídica debido a la interacción de los terpenos presente en el extracto, con las moléculas de la membrana.

Además, se ha reportado otros mecanismos como el agotamiento de las fuerzas motrices de protones, coagulación del contenido bacteriano. También pueden haber interferido compuestos fenólicos presentes en el extracto que inactivan enzimas. [81]



- En cuanto al ensayo de toxicidad subaguda se demostró que el extracto posee un efecto toxico en el hígado y riñones causando el incremento de tamaño de estos órganos e incrementando la concentración de la enzima ALT y la disminución de urea y del índice BUN.
- En el estudio antimicrobiano solo se presentó efecto inhibitorio contra *Escherichia coli* a una concentración de 500 µg/ml.
- El extracto presento efecto hipoglucemiante a los 60 minutos a la concentración de 150 mg/Kg de peso, comportándose de forma semejante a tolbutamida.



- Realizar el estudio comparativo con el extracto en medio alcohólico y otros disolventes diferentes al utilizado.
- Realizar una curva de dosis respuesta de DL50.
- Realizar el ensayo antibacterial con la concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$ como la más baja ya que en esta se presentó el efecto.
- Realizar estudios fitoquímicos para encontrar las moléculas responsables de los efectos mostrados.
- Determinar la concentración de ceruloplasmina ya que este es un indicador de inflamación.



11 REFERENCIAS

- 1.- Hernández MR. Plantas medicinales, usos y dosificación de las 184 plantas más usadas en américa latina. Colombia: Árbol Editorial; 1981.
- 2.- Ponz SE. El uso de plantas en la medicina tradicional de los pueblos tacana y machineri. Bolivia: Fundación PIEB; 2005.
- 3.- Osuna L, Tapia M, Contreras A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. España: Publicaciones i edición; 2005.
- 4.- Estrategia de la oms sobre medicina tradicional 2002-2005. Disponible en <http://apps.who.int/medicinedocs/fr/d/Js2299s/4.html> (ultimo acceso 15 de octubre 2015).
- 5.- Osorio DEJ. Aspectos básicos de farmacognosia 2009. Disponible en <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia> (ultimo acceso 15 de octubre de 2015).
- 6.- Avalos A, Perez-Urria E. Metabolismo secundario de plantas. España: Universidad complutense; 2009.
- 7.- Peña, A. Que es el metabolismo. México: SEP; 2001.
- 8.- Lizcano, A. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolitos de Aceites Esenciales de las Especies Vegetales Valeriana pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rhopaloides Frente a Microorganismos Patógenos y Fitopatogenos. Colombia: Universidad de Javeriana; 2008.
- 9.-Kuklinski C. Farmacognosia, estudio de las plantas y sustancias medicamentosas de origen natural. España: Omega; 2003.
- 10.- Ortega C, Guillen S, Ramos G. Métodos de inoculación y evaluación de extractos botánicos e isotiocianatos de la familia brassicaceae en el control de la roya del glodiolo. Revista Chapingo. 2010; 16 (1): 13-21.
- 11.- Hersch, M. Plantas medicinales: relato de una posibilidad confiscada, el estatuto de la flora en la biomedicina mexicana. México: Instituto nacional de antropología e historia; 2000.
- 12.- Galarza-Vázquez K. El gran desarrollo de la industria quimico-farmaceutica (primera parte). México: Medico Moderno; 2002.
- 13.- Galarza-Vázquez K. El gran desarrollo de la industria quimico-farmaceutica (segunda parte). Mexico: Medico Moderno; 2002.
- 14.- Cupul-Magaña FG. Cocodrilo: Medicina para el Alma y el Cuerpo. Revista Biomed. 2003; 14: 45-48.
- 15.- Velasco A, Lorenzo P, Serrano JS. Farmacologia. Madrid: McGraw Hill; 1993.



- 16.- Vieyle CG, Macedo-Ceja JP, Hernández Arroyo M. Farmacognosia: Breve Historia de sus Orígenes y su Relación con las Ciencias Médicas. *Revista Biomed* 2005; 15: 123-136.
- 17.- Romo de Vivar A. Productos naturales de la flor mexicana. México: Limusa; 1985.
- 18.- Altamirano, F. Estudio sobre el Cihopactli. *Anales Instituto de Medicina Nacional México*. 1989. 1: 108-111.
- 19.- Gallegos A. The zoapatle VI. *Revised Contraception*. 1985; 31 (5): 487-497.
- 20.- Bejar, E. Lozoya, X. Efecto comparativo de los productos del zoapatle y del verapamil sobre la contractibilidad uterina de la rata *in vitro*. *Archivo de Investigación Médica*. 1984; 15: 223-235.
- 21.- Villa Ruano N. Distintivos del zoapalte mexicano y su metabolismo secundario. *Temas de ciencia y tecnología* 2013; 17 (51): 3-9.
- 22.- Estrada, A. Enríquez, R. Lozoya, X. The zoapatle II. Botanical and Encological Determinants. *Contraception* 1983; 27 (3): 227-237.
- 23.- Agenda ambiental de la UASLP. *Montanoa tomentosa*. Disponible en <http://148.233.168.204/pfnm/MontanoaTomentosa.html> (ultimo acceso 2 de noviembre de 2015)
- 24.- Kupchan M, Takahashi M, Shibayama H, Munakata K. Natural products with anti breadt. *Adverse Effects of Herbal Drugs*. 1972; 36: 2579-2582.
- 25.- Romo de Vivar A. Productos naturales de la flora mexicana. México: Ed limusa; 1985.
- 26.- Imades. A traditional remedy from mexico emerges to modern times Disponible en <http://www.imades.org/entorno/entorno11/montanoa.htm> (ultimo acceso 2 de noviembre de 2015).
27. - Quijano L.; Calderon J. The Flavonoids: Advances in Research. *Phytochemistry* 1985; 24: 2741-2743
28. - Enriquez R, Escobar L, Romero M, Chavez M. *Journal of chromatography* 1983, 258, 297-301
29. - Rodriguez E. Yoshioka H. The sesquiterpen lactone chemistry of the compositae. *Phytochemistry* 1971; 10: 1145-1154.
- 30.- Rodríguez E, Tower G. Sesquiterpenoids lactones: benefits to plants and people. *Phytochemistry*. 1976; 15: 1573-1580.
- 31.- Ruiz RE, Suarez M. Lactonas sesquiterpénicas. diversidad estructural y sus actividades biológicas. *Revista CENIC* 2015; 46 (1). <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/articulos/lactonas-sesquiterp%C3%A9nicas->



diversidad-estructural-y-sus-actividades-biol%C3%B3gicas-sesquiterpene (ultimo acceso 2 de noviembre de 2015).

32.- Hernández Silvia. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. Revista BIOMEDICINA 2006, 2 (3); 252-256.

33.- Guidance for industry. animal models. essential elements to address efficacy under the animal rule. Disponible en <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM399217.pdf> (ultimo acceso 15 de noviembre de 2015]

34.-Harlan Laboratories, Inc <http://www.harlan.com/> (ultimo acceso 15 de noviembre de 2015).

35.- Mcphee SJ, Hammer GD. Fisiopatología de la enfermedad. una introducción a la medicina clínica. 6a ed. China: Lange Mc Graw Hill; 2011.

36.- Katzung B. Farmacología básica y clínica. 5ª edición. México: El manual moderno; 1992.

37.- Shibamoto T, Bjeldanes FL. Introducción a la toxicología de los alimentos. España: Acribia; 1996.

38.- Derache R. Toxicología y seguridad de los alimentos. España: Omega; 1990.

39.- Primo YE. Química agrícola iii. España: Alhambra; 1979.

40.- Flores JS, Canto GC, Flores SAG. Plantas de la flora yucatanense que provocan alguna toxicidad en el humano. Biomed 2001; 12:86-96.

41.- Miller LC, Tainer ML. Estimation of the dl50 and error by mens of logarithmic probit graph paper. revista. Experiments. Biology And Mededical 1944; 57: 261-264.

42.- Lu FC. *Toxicología Básica, Riesgos por Exposiciones a Sustancias Toxicas*. México: Harla; 1995.

43.- Álvarez MA. Evaluación bromatológica y toxicológica del aceite de la semilla de cacahuano. [Tesis]. UNAM; 2002.

44.- De la Hidalga C. *Evaluación toxicológica de la fracción proteica de la semilla de Cacahuano*. Tesis de licenciatura UNAM. 2003.

45.- Ortiz VA. Evaluación toxicológica y bioensayo nutritivo preliminar de la almendra de Clabaza. Tesis de licenciatura. UNAM; 2005.

46.- Curtis DK, Watkins BJ, Serrano MJ, Martinez SR, Cadavis TMI. Farmacología fundamental. Madrid: Mc Graw Hill. 2003.



- 47.- Bishop ML. Química clínica principios, procedimientos y correlaciones. 5ª edición. México: Mc Graw Hill; 2006.
- 48.- Henry J. Diagnóstico y tratamiento clínico para el laboratorio. 9ª edición. México: científicas y técnicas; 1991.
- 49.- García M.; Zurita A. Transaminasas: valoración y significación clínica. Sevilla: hospital universitario virgen macarena; 1998.
- 50.- Cordiés JL, Machado RL, Hamilton CM. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. Acta Médica 1998; 8(1):13-27.
- 51.- Forbes B, Sahm FD, Weissfeld SA. Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 13ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2007.
- 52.- Domínguez RM.; Galiana MJA.; Pérez VFJ. Manual de cirugía menor. España: Aran; 2002.
- 53.- Murray, Rosenthal, Pfaller. Microbiología Médica. 7ª ed. España: Elseiver; 2013.
- 54.- Departamento de microbiología y parasitología *terapéutica* Disponible en <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/terapeutica.html> (ultimo acceso 22 de diciembre de 2015).
- 55.- Avellato MA, Negroni R, Galimberti R. Antifúngicos. Ayer hoy y mañana. Activity Therapeutic Dermatological. 2007; 30: 8-13.
- 56.- Edward T, Charles E. Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de *streptococos* del grupo A. Madrid; OMS: 2-16.
- 57.- Koneman W, Alen S, Dowell V, Janda W, Somer H, Winn W. *Diagnostico Microbiológico, Texto y Atlas*. 3ª edición. Argentina; Panamericana: 1992.
- 58.- Cordiés JL, Machado RL, Hamilton CM. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. Acta médica. 1998; 8(1): 13-27.
- 59.- Cruz CA, Rodríguez NN, Rodríguez CE. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de bidens pilosa, lantana camara, schinus molle y silybum marianum. Revista U.D.CA Act. & Div. Cient 2010; 13 (2): 117-124.
- 60.- Murphy CM. Plant products as antimicrobial agents. Revisit Clinic Microbiology 1999;12(4): 564-582.
- 61.- Rezvanpanah S, Karamatollah R, Taghi GM, et al. Antibacterial properties and chemical characterization of the essential oils from summer savory extracted



by microwave-assisted Hydrodistillation. *Revista Braz J Microbiology* 2011; 42:1453-1462.

62.- Del Vitto AL, Petenatti ME. Asteráceas de importancia económica y ambiental. primera parte. sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. *Revista Multequina* 2009; 18: 87-115.

63.- Carrol CK. *Microbiología médica*. Mexico: Manual moderno; 2008.

64.- De la rosa M.; Prieto J. Navarro JM. *Microbiología en ciencias de la salud. Conceptos y aplicaciones*. 3ª ed. España: Elsevier; 2011.

65.- Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus.

66.- Tebar FJ.; Jiménez FE. *La diabetes mellitus en la práctica clínica*. España: Panamericana; 2009.

67.- Asociación latinoamericana de diabetes. Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la diabetes tipo 2. Disponible en <http://www.alad-latinoamerica.org> (ultimo acceso 13 de noviembre 2015).

68.- Salinas A. Diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias, posición de la SMNE. *Revista de endocrinología y nutrición*. 2004; 12 (1): 7-41.

69.- Lorenzo P, Moreno A, Lizoasain I, Leza JC, Moro MA. Portales A. *Farmacología básica y clínica*. 18ª Edición. Madrid: Panamericana; 2008.

70.- Roldan VA.; Ojeda CG.; Roldan VEA. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la facultad de medicina de la UNAM* 2011; 54 (1): 28-40.

71.- Llave Gomero FJ. Actualización en el manejo de los antidiabéticos orales en atención primaria. *Revista Medicina de familia*. 2008; 8 (2): 42-52

72.- P.R. *Vademécum* [CD-ROM]. México: informed; 2012.

73.- Chaves OR.; Del Vaega RB. Hipoglucemiantes orales: propiedades farmacológicas y usos terapéuticos. *Revista de posgrado de la catedra vía medicina*. 2001; 8(12): 34-44.

74.- Andrade-Cetto A.; Hienrich M. Mexican plants with hypoglucemic effect used in the treatment of diabetes. *Revista journal of entopharmacology* 2001; 99: 235-248.

75.- Carreón-Sánchez R, Marroquín SR, Mora GJLA, Aguilar CA, Flores CY, Flores PM, Hernández AVJ. Estudio del extracto etanólico de *eryngium heterophyllum* (hierba del sapo); para comprobar su actividad hipoglucemiante y anti-inflamatoria. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* 2013; 44(2): 41-44.



- 76.- Marroquín-Segura R, Flores PM, García BMM, Mora GJLA. Sánchez RJF, Aguilar CA. Efecto antihiper glucémico de un extracto acuoso de *Colubrina elliptica*. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas 2005; 36: 27-32.
- 77.- Marroquín R, Flores M, Carreón R, García M, Mora J, Aguilar A, Hernández A. The effect of the aqueous extract of *Helietta parvifolia* a. Gray (rutaceae) stem Bark on carrageenan-induced paw edema and granuloma tissue formation in mice. Revista ethnopharmacol. 2009; 124(3):639-641.
- 78.- Shrestha S, Rajan SS, Ganapathy S. Evaluating the antimicrobial activity of methanolic extract of *Rhus succedanea* leaf gall. Revista bioimpacts, 2013, 3(4), 195-198.
- 79.- Villa-Ruano N. Betancourt-Jimenez MG. Lozoya-Gloria E. DNA isolation and gene expression of kaurene oxidase from *Montanoa tomentosa* (zoapatle). Revista latinoam. Quím. 2010; 38 (2): 81-88.
- 80.- Taiz L, Zeiger E. Fisiología vegetal. Vol 2. Argentina: Universidad Jaume I; 2006.
- 81.- Vega E, Lopez-Malo A. Agentes antimicrobianos presentes en especias y hierbas. Temas Selectos De Ingeniería De Alimentos 2009; 3 (1): 85-95.

