



RESUMEN

Actividad amebicida y anti-inflamatoria del extracto acuoso de conyza filaginoides

Autor: ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, LM.

Coautores: Ramos-Ligonio, A., De la O-Arciniega, M., Rosales-Encina, JL. y López-Monteon, A.

Área de Investigación: Biomedicina

Institución: Instituto de Ciencias de la Salud, Doctorado en Ci

Tipo de Autor: Estudiante de Doctorado

Dependencia: Ciencias de la Salud

Año Residencia: -----

Hospital: -----

Matricula/Número Personal: S07016890

Teléfono Laboral: 272 72 40120

Extensión:

Teléfono Particular: 2727240062

Teléfono Celular: 2721136612

Email: lau_mony@hotmail.com

Email Alternativo: aralopez@uv.mx

Marco Teórico:

Desde tiempos inmemoriales, el hombre ha utilizado las plantas con fines terapéuticos, tanto en los países pobres, donde la fitoterapia constituye prácticamente la forma de tratamiento más económica y arraigada a la cultura popular, como en los países altamente industrializados, donde las plantas son fuentes de medicamentos. En las últimas décadas del siglo pasado, en todo el mundo se ha incrementado el interés por el estudio y el uso de las plantas medicinales. Este interés está dirigido a descubrir nuevas moléculas biológicamente activas para la industria farmacéutica y en la adopción de extractos crudos de plantas para contar con tratamientos eficaces de bajo costo para la auto-medicación por el público en general¹. América Latina, en conjunto con el resto de los países en vías de desarrollo, enfrenta día a día problemas de salud pública, que se tornan cada vez más intensos y de difícil control. En México, la diarrea es un serio problema de salud pública y es la segunda causa de enfermedad entre grupos de todas las edades². La amibiasis intestinal se caracteriza por diarrea fulminante y hemorragia

intestinal, y son precisamente estos trastornos los que permiten la diseminación de la amiba a sitios sistémicos, comúnmente el hígado, donde ocasiona el llamado absceso hepático amibiano (AHA)³. Esta enfermedad se trata con diversos fármacos como el albendazol, metronidazol y sus derivados⁴. Los resultados han tenido eficacia en cuanto al control parasitario; sin embargo, presentan un alto índice de toxicidad en el individuo y conllevan a interacciones medicamentosas con esteroides y antipiréticos⁵, además del alto costo de los tratamientos.

Antecedentes:

Actualmente, se tienen evidencias del uso de plantas medicinales que tienen propiedades amebicidas y no representan riesgos tóxicos para el usuario. De la misma manera, se han aislado compuestos bioactivos de estas plantas con las mismas características de seguridad y eficacia^{6,7}. Conyza filaginoides es una planta originaria de México, conocida comúnmente como simonillo, la cual se encuentra distribuida en los estados de Hidalgo, Oaxaca,

Morelos, Michoacán, Guanajuato y Estado de México. Se ha reportado que algunos componentes de *C. filaginoides* poseen actividad antiprotzoaria contra *E. histolytica* y *G. lamblia*⁸ y es muy utilizada dentro de la población de escasos recursos cuando se padece de trastornos intestinales como la diarrea. Dentro de las áreas prioritarias de investigación sobre medicina tradicional, la OMS menciona la de estudiar los mecanismos de acción de las terapias individuales, incluyendo los patrones de respuesta al tratamiento. Actualmente no se han realizado estudios que permitan comprender el mecanismo de acción por el cual los extractos acuosos de *C. filaginoides* ejercen sus efectos contra los desórdenes intestinales para los cuales son utilizados en algunos estados de México; asimismo, se desconoce si estos extractos realmente curan o solamente modulan el proceso inflamatorio involucrado en estos desórdenes.

Hipótesis:

El extracto acuoso de *C. filaginoides* podría inhibir el crecimiento de *E. histolytica*.

Objetivo General:

Estudiar el efecto del extracto acuoso de *C. filaginoides* sobre el crecimiento de *E. histolytica*.

Metodología:

Es un estudio experimental; la muestra vegetal de *Conyza filaginoides* fue colectada en el mes de octubre en el Municipio de Epazoyucan, Hgo. El extracto acuoso (EACf) se preparó tal y como se utiliza en terapéutica tradicional: empleando el método de infusión. El extracto se preparó a 100 mg/ml y se esterilizó por filtración. Las amibas fueron cultivadas en medio TYI-S-33 y colectadas a las 72 horas⁹. Los tubos fueron inoculados con (10)5 amibas y con el EACf a diferentes concentraciones (0, 200, 400, 600, 800 y 1,000 µg/ml), y cultivados 7 días; la viabilidad fue determinada por exclusión con azul tripano. Las amibas interaccionadas con el EACf fueron obtenidas por centrifugación y lisadas; las proteínas se separaron en SDS-PAGE a 10% y visualizadas por tinción con azul de Coomassie¹⁰. Los macrófagos fueron obtenidos por exudado peritoneal de ratones BALB/c y se estimularon con diferentes concentraciones de EACf

(31.25-2000 µg/ml), y como control se estimularon con IFN-γ (100 U/ml) en presencia de L-NAME (4.6-300 µM). La determinación de NO₂ se realizó por el método de Griess. Los macrófagos fueron lisados y las proteínas separadas electroforéticamente y transferidas a papel de nitrocelulosa¹¹ para su inmunodetección con anti-iNOS.

Resultados:

Cuando las amibas se interaccionaron con el EACf a diferentes concentraciones se observó un efecto directo sobre *E. histolytica*, ya que a una concentración de 800 µg/ml se observa una viabilidad de 43%. Para investigar si existía una proteína que se expresara por acción del EACf, se recuperaron las amibas que estuvieron en contacto con el EACf y se observó que a 400 µg/ml existe la expresión de una proteína de 97 kDa. Por otra parte, debido a que el macrófago es una de las células más importantes en la respuesta inmune inducida contra *E. histolytica*, analizamos si el EACf presentaba propiedades inmunomoduladoras, a través de la inducción de ON, y se observó que es capaz de disminuir la producción de ON y de la sintasa de ON (iNOS) en macrófagos de peritoneo de ratones BALB/c activados con IFN-γ, cuando éstos son interaccionados in vitro con el EACf.

Discusión:

Existen constituyentes de *C. filaginoides* que tienen propiedades anti-protzoarias⁸; sin embargo, la población de escasos recursos utiliza infusiones de las plantas, por lo que es importante determinar si los EACf presentan la misma actividad. En el presente trabajo se encontró que *C. filaginoides* tiene propiedades amebicidas; en respuesta, la amiba segrega una proteína que puede fungir como un mecanismo de defensa del parásito a la acción del EACf. En *E. histolytica* se han descrito varios genes de multirresistencia a drogas (MDR) que codifican para glicoproteínas presentes en la membrana del parásito y que son los encargados de bombear la droga del citoplasma al exterior¹², y propiedades anti-inflamatorias ya que existe disminución de ON a nivel de la expresión de la enzima; efecto contrario se ha observado con otros extractos acuosos¹³. En conclusión, el EACf presenta propiedades

inmunomoduladoras que le pueden permitir actuar como un agente terapéutico para enfermedades inflamatorias.

Referencias Bibliográficas:

1. Houghton, P.J. (1995) The role of plants in traditional medicine and current therapy. *J Altern Complement Med* 1: 131-143.
2. Secretaria de Salud (SS), (2003). Manual de Vigilancia Epidemiológica, DGE, México. <http://www.ssa.gob.mx/epide/2003/sem49/cua4.1.html>.
3. Martínez-Palomo A. and Ruíz-Palacios G. (1990) Amebiasis. In *Tropical and Geographical Medicine* (Warren, K. S., Mahmoud, A. A. F., eds), New York: McGraw-Hill Book Co., 327-344
4. Powell, S.J., MacLead, L. Wilmot, A.J., and Elsdon-Dew, R. (1996) Metronidazole in amoebic dysentery and amoebic liver abscess. *Lancet* 17: 1329-1331.
5. Gujral, S., Patel, N., Chaudhuri, S.K., and Seth, P. (1982) Altered lipid profile in liver amoebiasis and its emendation with metronidazole treatment. *Indian J. Physiol. Pharmacol* 26: 240-245.
6. Sohni, Y.R., Karmal, P. and Bhatt, R.M. (1995) The antiamebic effect of a crude drug formulation of herbal extracts against *Entamoeba histolytica* in vitro and in vivo. *J. Ethnopharmacol* 45: 43-52.
7. Di Staci, L.C (1995) Amoebicidal compounds from medicinal plants. *Parassitologia* 37: 29-39.
8. Calzada, F., Cedillo-Rivera, R., and Mata R. (2001) Antiprotozoal activity of the constituents of *Conyza filaginoides*. *J Nat Prod* 64: 671-673.
9. Diamond, L. S, Harlow, D. R., Cunnick, C. C. (1978) A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 72:431-432.
10. Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)*. 227: 680-685.
11. Towbin, H., Staehlin, T., and Gordon, J. (1992) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Biotechnology* 24: 145-149.
12. Gómez-García, C., Pérez, D.G and Orozco, E (1999) Physiology and molecular genetics of multidrug-resistance in *Entamoeba histolytica*. *Drug Resistance Updates*. 2:188-197.
13. Choi, B.T., Lee, J.H., Ko, W.S., Kim, Y.H., Choi, Y.H., Kang, H.S., and Kim, H.D. (2003) Anti-inflammatory effects of aqueous extract from *Dichroa febrifuga* root in rat liver. *Acta Pharmacol Sin*. 24:127-132.