



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

91-95-A

087565939

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN
NUEVO MODELO DE UROLITIASIS EN RATA
PARA VALORAR LA EFECTIVIDAD DEL
COCIMIENTO DE *Larrea tridentata*
EN LA REDUCCIÓN DE LA FORMACIÓN DE
CÁLCULOS VESICALES

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MARÍA LUISA RAMOS IBARRA

GUADALAJARA, JALISCO, FEBRERO DE 1999

DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN NUEVO
MODELO DE UROLITIASIS EN RATA PARA VALORAR
LA EFECTIVIDAD DEL COCIMIENTO DE *Larrea*
tridentata EN LA REDUCCIÓN DE LA FORMACIÓN DE
CÁLCULOS VESICALES.

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ
EN
LA DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN QUIRÚRGICA
DEL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE
OCCIDENTE
C.I.B.O.
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
I.M.S.S.

PRESENTA:

MARÍA LUISA RAMOS IBARRA

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

M. EN C. ELISEO PORTILLA DE BUEN

LA ASESORIA DE:

MVZ ALBERTO RAMOS MORA

CON LA COLABORACIÓN DE:

**M. EN C. ABIGAIL AGUILAR CONTRERAS
MVZ DAVID Z. GARCÍA MARTÍNEZ**

AGRADECIMIENTOS

Para todo hay un tiempo señalado,
aun un tiempo para todo asunto bajo
los cielos:
tiempo de nacer y tiempo de morir;
tiempo de plantar y tiempo de
desarraigar lo que se haya plantado;
tiempo de matar y tiempo de sanar;
tiempo de derribar y tiempo de
edificar;
tiempo de llorar y tiempo de reír;
tiempo de plañir y tiempo de dar
saltos;
tiempo de desechar piedras y
tiempo de reunir piedras
y tiempo de abrazar y tiempo de
mantenerse alejada de los abrazos;
tiempo de buscar y tiempo de dar
por perdido;
tiempo de guardar y tiempo de
desechar;
tiempo de rasgar y tiempo de unir
cosiendo;
tiempo de callar y tiempo de hablar;
tiempo de amar y tiempo de odiar;
tiempo de guerra y tiempo para paz.
¿Qué ventaja hay para el hacedor
en aquello en que está
trabajando duro?...

Eclesiastés 3:1-9.

A DIOS:

Por la fortaleza espiritual que me brinda cada día y que sin ella, no habría podido culminar este trabajo.

A ti señor... ¡ GRACIAS !

A MI TUTOR:

Por haberme brindado la oportunidad de integrarme a su Equipo de Trabajo y con esto, a la vez crecer académicamente junto con la División de Investigación Quirúrgica, a la que siempre recordare con mucho cariño...

Por todo su apoyo, paciencia, conocimientos académicos y sobre todo por su amistad.

¡ GRACIAS !

A MI ASESOR Y COLABORADORES:

GRACIAS por su entusiasmo y apoyo para la elaboración de éste trabajo

A MI MADRE:

Por su apoyo y perseverancia para que continuará con mis ambiciones...

¡ GRACIAS !

A MI PADRE:

Por la libertad que me ha permitido, para tomar mis propias desiciones...

A MIS HERMANOS:

Quiero decirles que:

Cuando las cosas vayan mal como a veces pasa

Cuando el camino parezca cuesta arriba.

Cuando sus recursos menguen y sus deudas suban.

Y al querer sonreír, tal vez supieran.
Cuando sus preocupaciones los tengan agobiados.
Descansen si urge, pero no se rindan...
¡ LUCHEN !

A MI PRIMA MARTHA:

Por su ayuda incondicional y por creer en mí... **¡ GRACIAS !**

A TODOS LOS INTEGRANTES DEL LABORATORIO DE MUTAGÉNESIS:

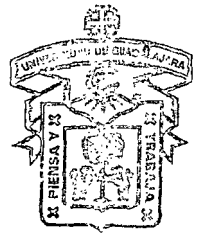
Por el apoyo y las facilidades que me han brindado para que lograré concluir este trabajo... **¡ GRACIAS !**

A TODOS MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS:

Quiero decirles que no encuentro palabras suficientes para expresar mi agradecimiento hacia cada uno de ustedes...
Pero recuerden siempre, que al sembrar pensamientos positivos hacia alguien.
Se cosecharan frutos perdurables...
No importa el tiempo que tenga que invertirse para ello.

ANITA:

Tú eres una de las personas que forman parte del grupo anterior, pero quisé ser más específica contigo...
Gracias por toda tu paciencia y sugerencias en la impresión de este trabajo
Con cariño...



BIBLIOTECA CENTRAL

Al Dr. en C. Luis Huacaya
y la M. en C. Alicia Navarro:
GRACIAS, por sus valiosas sugerencias
para la realización de este trabajo.

Al Ing. Rogelio Troyo:
Por su apoyo en la realización del análisis estadístico;
GRACIAS!..

CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	34
JUSTIFICACIÓN	36
HIPÓTESIS	38
OBJETIVOS	40
METERIAL Y MÉTODOS	43
RESULTADOS	54
DISCUSIÓN	59
CONCLUSIONES	68
BIBLIOGRAFÍA	71
FIGURAS	
• Figura 1	78
• Figura 2	79
• Figura 3	80
• Figura 4	81
• Figura 5	82

- Figura 6 83

GRÁFICAS

- Gráfica 1 85
- Gráfica 2 86
- Gráfica 3 87
- Gráfica 4 88
- Gráfica 5 89
- Gráfica 6 90

CUADROS

- Cuadro 1 92
- Cuadro 2 93
- Cuadro 3 94
- Cuadro 4 95
- Cuadro 5 96
- Cuadro 6 97
- Cuadro 7 98
- Cuadro 8 99

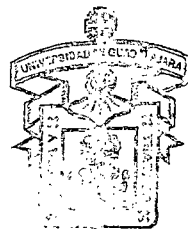
RESUMEN

Se diseñó un modelo de urolitiasis en ratas Wistar machos adultos, comparando la aplicación de dos técnicas quirúrgicas (una serie fija de 15 nudos de sutura 5-0, dentro de la vejiga urinaria o una lazada de sutura del mismo calibre atravesando la pared de la misma). Se evaluaron tres materiales de sutura con ambas técnicas: poliéster, seda, y catgut crómico. Las ratas fueron asignadas aleatoriamente para formar seis grupos. Se realizó un urograma excretor a los 30, 60 y 90 días postoperatorios para confirmar la presencia de cálculos. Los animales con diagnóstico radiográfico positivo fueron sacrificados para obtener los urolitos. A los 90 días de estudio el resto de los animales se sacrificó, independientemente de los resultados de las urografías. Las variables evaluadas para cada grupo fueron: días promedio a urograma positivo, peso promedio de todos los urolitos y porcentaje de los animales que desarrollaron urolitiasis durante el estudio. No hubo diferencias estadísticamente significativas para el peso de las piedras entre los grupos, los cuales tuvieron un rango de 0.008 a 1.502 g y los tres materiales de sutura fueron más litogénicos con la técnica de 15 nudos dentro del órgano. La técnica de 15 nudos con catgut crómico o con seda fue más litogénica en el tiempo, con un rango de 28.5 a 39.19 días, y el poliéster no fue litogénico cuando sólo se utilizó la técnica de una lazada de sutura en la pared de la vejiga. Una vez

caracterizado el modelo, se procedió a evaluar el cocimiento de *Larrea tridentata* en la reducción de litiasis urinaria, por lo que se realizó un segundo estudio con la técnica seriada de 15 nudos de catgut crómico dentro de la vejiga, en ratas macho Wistar. Estos fueron divididos aleatoriamente en dos grupos, uno que recibió 1 ml del cocimiento de *L. tridentata*, tres veces al día, durante un período de tres meses y otro que recibió 1 ml de vehículo. En el momento de la cirugía se tomaron muestras basales de orina, y al final del estudio para pruebas de urocultivo y examen general de orina. A los 45 días posquirúrgicos se realizó urografía excretora y a los 90 días se tomaron muestras de sangre para biometría y química sanguínea. Finalmente, se extrajeron por autopsia los urolitos, los cuales se sometieron a deshidratación y se pesaron. Las variables analizadas fueron: peso promedio de los urolitos, y diagnóstico radiográfico a los 45 días. Los pesos corporales no mostraron alteraciones a lo largo del estudio en el grupo experimental. La posible actividad diurética de *L. tridentata* fue medida de forma indirecta por comparación de la relación de agua entre el peso corporal y no hubo diferencia entre grupos. Los análisis de orina, biometría y química sanguínea entre ambos grupos no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Los pesos promedio de los urolitos tampoco mostraron diferencias, por lo que se concluyó

que el cocimiento de *L. tridentata* en toma oral tres veces al día, en el modelo estudiado, no es efectivo para reducir la formación de cálculos urinarios.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

INTRODUCCIÓN

La urolitiasis es común en el humano y muchas especies animales (1-7). La incidencia de urolitiasis varía en cada zona geográfica, y depende de diversos factores tales como: la raza (8), desequilibrios hormonales, excesos dietéticos, anormalidades anatómicas, desbalances minerales, infecciones urinarias, función gonadal, pH urinario, hiperuricemia y otros (9-14).

La composición química de los cálculos pueden ser de fosfato de calcio, magnésico o amónico; oxalato, oxalato de calcio; ácido úrico, o urato sódico o amónico, conteniendo algunas veces oxalato y fosfatos; carbonato cálcico; cistina, o xantina (7-10). El tratamiento puede ser farmacológico o quirúrgico, de acuerdo con el cuadro clínico (8, 11, 15). Existen diversos tratamientos no quirúrgicos, como es el caso de la herbolaria tradicional (16-18).

Las plantas se encuentran entre los recursos naturales que la humanidad emplea desde la antigüedad. Las plantas medicinales pueden obtenerse mediante tres vías: la colecta silvestre, el cultivo y el intercambio en el sistema de mercados o *tianguis* (19, 20).

A partir de la declaración de la Conferencia Internacional sobre Atención Primaria de Salud, organizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la *United Nations Children's Found* (UNICEF), en Alma Ata, URSS, en 1978, los sistemas oficiales de salud se interesaron en conocer sus sistemas médicos

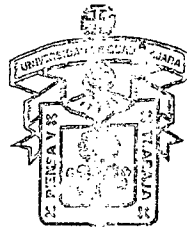
alternos, de los que la mayoría incluye el uso de plantas medicinales. Este interés ha surgido también en el ámbito de la ciencia y de la economía. Es frecuente en la literatura científica la inclusión de especies vegetales como uno de los recursos importantes a considerar en la búsqueda de nuevos medicamentos.

Aproximadamente el 50-80% de la población que habita en los "países en desarrollo" y que constituye el 75% de la población mundial, aún depende de los remedios herbolarios tradicionales. En México se estima que aproximadamente el 60% de los habitantes utiliza plantas medicinales para tratar diversos padecimientos. El sustentar con bases científicas el uso de los recursos herbolarios de la medicina tradicional en México, ha sido el objetivo de muchos especialistas en las últimas décadas. Es de importancia enfatizar además que, ajeno a los intereses del científico, de la industria o del comercio, subyace un conocimiento empírico popular que se practica y se transmite (20, 21).

Particularmente llama la atención el género *Larrea*, un arbusto que posee más de 125 componentes químicos: 67 constituyentes volátiles, 19 aglicon flavonoides, más diversos lignanos incluyendo el ácido nordihidroguayarático (NDGA), su principal componente fenólico, que es un poderoso antioxidante. Contiene también algunos flavonoides, glicósidos, sapogeninas y ceras (22, 23).

Despertó gran interés en el personal del herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y en nuestro grupo de trabajo, la posible acción potencial para "prevenir y disolver" los cálculos urinarios y biliares al cocer las hojas y pequeñas ramas del arbusto e ingerirlas en forma de té, procedimiento acostumbrado en la herbolaria tradicional. Por tal razón, se montó un modelo *in vivo* de urolitiasis en rata en el cual se pudiera seguir su evolución. Este consistió en la aplicación directa de suturas dentro de la vejiga y mediante urografía excretora la confirmación de urolitos. Se evaluó también la eficiencia del cocimiento de *L. tridentata* por un período de tres meses, para reducir la formación de cálculos urinarios, en el modelo descrito.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

ANTECEDENTES

• DEFINICIÓN Y GENERALIDADES

La litiasis urinaria o urolitiasis es la formación de agregados minerales en las vías urinarias. Forma parte de los primeros relatos médicos y quirúrgicos, conocido como el "mal de la piedra" (10). Los estudios arqueológicos muestran que es una de las enfermedades más antiguas, que afligía a la humanidad desde el año 4800 a.c. (9, 12). Son predisponentes entre otras la presencia de biomoléculas (proteínas, bacterias, tejido necrótico o coágulos sanguíneos), en algún sector del aparato urinario (8-10). De acuerdo con la localización y tamaño del lito, este padecimiento puede ser desde asintomático, hasta presentar cuadros dolorosos, hematuria, obstrucción e infección en vías urinarias (8, 11, 15). Varios estudios epidemiológicos muestran que la urolitiasis se presenta con mayor frecuencia en las regiones comprendidas entre el Trópico de Cáncer y el Trópico de Capricornio; en una banda que ha sido denominada "Cinturón Litiásico Mundial". En este cinturón se localizan las zonas más calurosas del mundo, con deficiencias económico-sociales y culturales: Sudamérica, Centroamérica y el Caribe, noroeste de Brasil, Tailandia, varios países africanos, parte del sureste de Estados Unidos (E.U.A.) y México. Algunos autores han demostrado una alta prevalencia en México, en especial la Península de Yucatán, donde es de las más altas del mundo. Sin embargo, no se

cuenta con estudios epidemiológicos suficientes que avalen tales afirmaciones (10).

• ETIOPATOGENIA

Participan todas aquellas condiciones que permiten el acúmulo de sustratos en las vías urinarias tales como:

- Períodos prolongados de inmovilidad.
- Obstrucción y estasis de orina concentrada, relacionadas con la disfunción renal.
- Infección en algún sector del aparato urinario.
- Deshidratación crónica, asociada con una dieta rica en purinas, o ingestión excesiva de alimentos ricos en calcio, fósforo, ácido úrico, oxalato o vitamina A (8-11). O bien, deficiencia de fósforo, magnesio, pirofosfatos, citratos, glucosaminoglucanos, y vitamina A (12-14).
- Cuerpos extraños como material de sutura u otros (8, 9).
- Sexo. Aproximadamente el 1% de los varones adultos y el 0.5% de las mujeres presentan nefrolitiasis (en sujetos de raza negra, es menos frecuente).
- Herencia. Existen algunos tipos de litiasis dependientes directamente de trastornos genéticos. La cistinuria asociada con urolitiasis fue uno de los

primeros trastornos metabólicos congénitos descritos. Otro error del metabolismo que origina cálculos urinarios de xantina, descrito por Dent y Philpat en 1954, que parece ser de herencia autosómica, se caracteriza por pérdida de la actividad de la xantinaoxidasa, que transforma xantina en hipoxantina (10).

- Otros factores de riesgo influyen en el grado e intensidad de la litiasis. Éstos incluyen el estado metabólico del paciente y dependen de desequilibrios hormonales tales como: sarcoidosis, osteoporosis, hiperoricaciduria, hiperoxaluria, cistinuria, hiperuricemia, hiperparatiroidismo, acidosis tubular renal y anomalías anatómicas, que conducirían a una infección crónica o aumentar el depósito de cristales en vías urinarias altas (9, 10).

• CLASIFICACIÓN DE LOS UROLITOS

Los urolitos se han clasificado de acuerdo con su tipo y composición en:

Cálculos orgánicos, constituidos por ácido úrico, cistina o xantina, sustancias que se elevan por trastornos metabólicos y precipitan más fácilmente en orinas ácidas. Los litos de ácido úrico presentan una superficie lisa, son redondeados, de consistencia dura, con capas concéntricas y estrías radiales; de color amarillo o pardusco. Pueden estar formados por ácido úrico puro o urato sódico

o amónico, y contener oxalatos y fosfatos. Los de ácido úrico puro son transparentes a los rayos X pero cuando poseen sales cálcicas pueden observarse débilmente. Los de cistina son pequeños, redondeados, y de aspecto céreo, de color amarillo intenso que se hace verdoso a la exposición con la luz. Son difícilmente observables por rayos X. Este tipo de cálculos es muy raro.

Cálculos de oxalato de calcio, presentes predominantemente en orinas ácidas o alcalinas. Presentan una superficie rugosa, sembrada de prominencias agudas en forma de mora, son de color negro y los más radiopacos.

Cálculos de fosfato amónico magnésico o de carbonato o fosfato de calcio (brucita), frecuentemente asociados a infecciones y presentes en orinas alcalinas. Son pequeños, redondeados, lisos y de color blanco grisáceo, de consistencia blanda, con capas concéntricas. Los de carbonato cálcico son raros, de consistencia muy dura, brillantes y blancos (8-10, 24-26).

D' Silva y cols. identificaron que las piedras producidas con material de poliglactina o catgut crómico en la técnica de trasplante renal en ratas, eran de brucita ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Además encontraron un alto porcentaje calculogénico con este material (27).

• TRATAMIENTO

El tratamiento debe ser orientado en tres sentidos: terapéutica del dolor tipo cólico, producido por el descenso de los litos dentro del uréter; remoción del cálculo retenido (que puede ser quirúrgica o no, de acuerdo con la severidad de los síntomas, la localización, composición, estructura, grado de infección y obstrucción, entre otros) y prevención de la formación posterior de cálculos (8, 9). Actualmente existe infinidad de tratamientos no quirúrgicos con resultados variables, entre ellos el farmacológico, específico para los trastornos metabólicos, por litotripsia (8, 9, 28, 29) y en particular el manejo de la herbolaria (por medio de plantas medicinales o sus derivados) (16-18, 30).

Cabe mencionar que la terapia por medio de las plantas medicinales tiene orígenes muy remotos. El primer estudio minucioso de las plantas fue realizado por quienes practicaban la medicina herbolaria, prueba de ello es el papiro de Ebers, escrito hace 3500 años, el cual contiene una lista de las plantas medicinales y precisa su uso (31). Otras terapias alternativas, como la homeopatía, acupuntura, digitopuntura y magnetoterapia se basan en el supuesto de que es posible por medios "naturales" ayudar al organismo a recuperar el equilibrio perdido que le ha conducido a la enfermedad, sea por causas externas o por alteraciones producidas en el propio cuerpo (32).

• MODELOS EXPERIMENTALES DE UROLITIASIS

La rata ha sido ampliamente utilizada para inducir urolitiasis. Esta se ha logrado con dietas elevadas en proteínas (33), altas concentraciones de calcio y/o deficientes en vitamina A (14). También con sustancias sistémicas, como la testosterona (34), o el oxalato de sodio (35), la administración oral de sustancias como bisacodyl (36), o glicolato de sodio (37), y el implante directo dentro de la vejiga de diversos materiales, como matrices de vidrio (38), discos de zinc (39), o depósitos de esperma (40).

• ESTUDIO DEL EFECTO DE PREPARACIONES HERBOLARIAS EN LA ETIOPATOGENIA DE LA UROLITIASIS

Existen diversos estudios experimentales etnobotánicos, sobre el tratamiento de la urolitiasis. En un estudio se evaluaron los efectos de infusión de *Herniaria hirsuta* L. (*carrophyllaceae*) y *Agropyron repens* L. (*gramineae*), sobre la prevención de cálculos de oxalato en ratas Wistar. A éstas se les indujo urolitiasis a base de diferentes dietas combinadas (alta en glúcidos y alta en proteínas). De este estudio se dedujo que no hay ningún efecto inhibitorio de la infusión de *A. repens* o *H. hirsuta* sobre los factores de riesgo de urolitiasis (33).

En otro estudio realizado en Tailandia, se asoció el riesgo de urolitiasis con el estado nutricional, hábitos dietéticos, el consumo de vegetales con alto contenido de ácido oxálico y dieta baja en fósforo. Estas observaciones motivaron la realización de un ensayo clínico controlado, en el que se administró a sujetos con alto riesgo de urolitiasis, un suplemento rico en ortofosfato o semillas de calabaza con la finalidad de reducir el riesgo de esta patología. Se concluyó que la elevación del magnesio urinario asociada al consumo del suplemento permite una reducción del citrato disponible en la orina, con disminución importante en el riesgo de formación de cálculos de este material (12).

- **NOMBRES COMUNES DE *Larrea tridentata*. (Sessé & Moc. Ex DC.) Coville.**

L. tridentata recibe distintos nombres originados de la observación de algunas de sus características físico-químicas. Por la arquitectura de su parte aérea, en Argentina se le llama jarilla. De la capacidad para sintetizar en sus hojas innumerables sustancias químicas surgió en los E.U.A. el nombre de *creosote bush* y por su dominante presencia en los desiertos de México se le conoce como *gobernadora*, *hediondilla*, *falsa alcaparra* y *huamis* (16, 17, 30).

- **BIOLOGÍA DE *Larrea tridentata*.**

El género *Larrea* pertenece a la familia *Zygophilaceae*, de la cual se derivan cinco especies. Es un arbusto de 0.5 a 3.5 m de alto, fuertemente aromático, de tallos con numerosas ramas flexuosas que salen desde la base y que a su vez se ramifican abundantemente en forma divaricada y ascendente (Fig. 1). Tiene estípulas obovoides, agudas a cortamente acuminadas, de 1 a 4 mm de largo, separadas del tallo y peciolos. Estos de 1 a 2 mm de largo, con las hojas formadas por dos folíolos connados entre sí en la base y unidos por medio del raquis que sobresale entre ambos a modo de mucrón hacia el ápice. Los folíolos son oblicuamente ovados a lanceolados o falcados, divaricados, de 4 a 15 mm de largo y 3 a 8.5 mm de ancho. Estos son enteros, coriáceos, resinosos, densamente pubescentes, aglabrados, verdes o verde-amarillentos, a veces aproximándose al pardo, con tres a cinco nervios evidentes paralelos entre sí. Pedúnculos de 3 a 12 mm de largo; flores de alrededor de 2.5 cm de diámetro, protogínicas (con el gineceo maduro antes que el androceo). Sépalos elípticos, de unos 6 mm de largo y 4 mm de ancho, pubescentes, caedizos; pétalos de color amarillo fuerte, oblongos a lanceolados, cortamente unguiculados, de cerca de 1 cm de largo y 3 a 5 mm de ancho, caedizos. Filamentos de 4 a 8 mm de largo, acompañados en su base de una escama bilobada o laciniada, de más o

menos la mitad de su longitud, anteras oblongas, de 2 a 3 mm de largo. Ovario densamente piloso, placentación axilar con alrededor de 8 óvulos en cada lóculo, estilo cilíndrico, de 4 a 6 mm de largo, persistente en el fruto joven, estigma entero o casi entero. Fruto subgloboso a obovoide, de aproximadamente 7 mm de alto, coriáceo, con pelos blancos, sedosos, que se vuelven café-rojizos con el tiempo. Cinco mericarpios vaviculares, con una semilla fértil cada uno, semillas cafés a negras, algo curvadas, de 2 a 4 mm de largo (30, 41).

• DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

Las cuatro especies que se encuentran en los desiertos de Argentina, Chile, Bolivia y Perú son: *cuneifolia*, *divaricata*, *nitida* y *ameghinoi*. Después de miles de años de evolución se convirtieron en la especie *tridentata*, característica del Norte de México, (Sonora, San Luis Potosí, Chihuahua, Baja California, Sinaloa, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Querétaro, Hidalgo, Guanajuato y Zacatecas) y el sureste de E.U.A. Presente en climas muy seco, seco y templado entre los 10 y los 200 m a nivel del mar, asociada a bosque tropical caducifolio, matorral xerófilo, bosques de encino y de pino. Se han encontrado tres diferencias citogenéticas en la especie *tridentata*; en los desiertos de Chihuahua es diploide ($n = 13$); en los desiertos de Sonora es

tetraploide ($n = 26$) y en el desierto de Mojave es hexaploide ($n = 39$) (16, 22, 23, 41, 42).

Se ha discutido ampliamente si *L. divaricata* Cav., de las zonas áridas de Sudamérica y *L. tridentata* pertenecen o no a una misma especie. Algunos autores han considerado a la planta de México y de E.U.A. como subespecie de *L. divaricata*. Otro acercamiento considera la separación de dos entidades basándose en diferencias en algunas características morfológicas de las estípulas y de las hojas, así como de la pubescencia de la lámina foliar y diferencias en el contenido de algunos productos químicos, apoyadas a su vez por la aparente existencia de una barrera reproductiva entre las plantas del Sur y las del Norte (41).

• COMPOSICIÓN QUÍMICA

El género *Larrea* es muy variado químicamente. Para probar la disyunción del origen enigmático de este género de América del Norte y Sur, en el programa de Biología Internacional sobre el origen y estructura de los ecosistemas, se investigaron los productos naturales sintetizados por todas las especies de *Larrea* (22)

° **Constituyentes volátiles.**

En 1945 Waller y Gisvols describieron que *L. tridentata* contenía cerca de 0.1% de aceites volátiles. Se utilizó cromatografía de gases y espectrometría de masa, con los cuales se identificaron 67 aceites que constituyeron más del 90% de la fracción volátil (Cuadro 1). El restante 10% del aceite son mezclas complejas de más de 300 constituyentes menores. Los aceites volátiles contienen productos de ácidos grasos y vías ácidas químicas. El olor típico de este género se debe a un gran número de sustancias. La presencia de vinil cetonas probablemente contribuye de manera significativa, ya que individualmente semejan aspectos del olor de *Larrea*. Se encontró que éstas no son producidas por *L. ameghinoi* (Cuadro 1), lo que coincide con una menor evidencia odorífera en los miembros de esta especie (22).

° **Acido Nordihidroguayarético y Lignanos Relacionados.**

Aproximadamente del 5 al 10% del peso seco de las hojas es ácido nordihidroguayarético (NDGA, 2,3-dimetil-1,4-bis-3,4-dihidrofenil-butano) (22). Todas las especies y sus híbridos lo producen en una cantidad importante que da a *L. tridentata* interés económico (23). Gisvol y Thaker describieron otros cuatro lignanos estructuralmente relacionados al NDGA de *L. tridentata* en las poblaciones de Tucson Arizona: norisoguacin, 3'-demetoxisoguacín, ácido

dihidroguayarático y parcialmente ácido dihidroguayarático dimetilado. Las cantidades relativas de NDGA producidas por todos los grupos poliploides son las mismas, pero existe variación en las hojas de edades diferentes. El NDGA y otros fenólicos predominantes en la superficie de las hojas, pueden ser una defensa importante contra los herbívoros (22).

° **Flavonoides.**

Protegen a la planta contra la pérdida de agua y la radiación ultravioleta. Se les atribuyen funciones como agentes antimicrobianos y disuasivos de herbívoros (22).

° **Aglicones Flavonoides.**

Chirikjian, aisló e identificó cinco aglicones flavonoides de *L. tridentata*: kaempferol, kaempferol 3-metil éter, quercetín, isoramnetín, y quercetín 3-metil éter. Otros estudios han descrito la presencia de 19 aglicon flavonoides en el grupo hexaploide. El gossipetín 3,7,3'-trimetil éter, gossipetín 3,7-dimetil éter y herbacetin 3,7-dimetil éter, se describieron como productos naturales nuevos de *L. cuneifolia* (Cuadro 2) (22).

No se observaron diferencias cualitativas para los aglicones flavonoides de la resina entre los tres grupos ploídicos de *L. tridentata* que se observan en las regiones del noroeste y sureste, en los E.U.A. y México. Además los patrones

internos de los flavonoides y glucósidos determinados por dos cromatografías dimensionales de papel, fueron idénticos, excepto por una población en la ciudad de Querétaro. Esta última contenía todos los aglicones, menos dos de los glucósidos (22).

◦ **Glucósidos Flavonoides.**

Se detectó un total de 18 glucósidos flavonoides por cromatografías de dos dimensiones en todos los grupos de *Larrea*. De éstos, 16 se encontraron en *L. tridentata* y 17 en *L. divaricata*. El número de glucósidos flavonoides en *L. cuneifolia*, *L. nítida* y *L. ameghinoi* es 8, 7, y 8 respectivamente. Cada una produce un sólo compuesto. Se reportaron flavonoides sulfatados en *L. tridentata* y *L. divaricata*. Estas sales flavonoides aparentemente no son producidas por otras especies, lo que indica otros vínculos químicos entre *L. tridentata* y *L. divaricata*. Todos los grupos producen uno o más miembros de la misma clase de flavonoides (flavona O-glicósidos, flavona C-glicósidos y flavonol O-glicósidos), indicando capacidad biosintética en todos los grupos (22).

◦ **Ceras y Ésteres.**

Waller y Gisvold en 1945 describieron las propiedades químicas y físicas de un material ceroso, similar a la cera carnauba (22).

◦ **Fitoesteroles y Triterpenos, incluyendo Saponinas.**

Habermentl y Christ en 1974, identificaron tres esteroides de *L. tridentata*: campesterol, stigmasterol y sitoesterol. De acuerdo con Habermehl y Moller del 10 al 15% del peso seco de las hojas de *L. tridentata* son saponinas (glucósido triterpeno) y glucósidos. El examen de varias muestras colectadas de este arbusto en algunos sitios de México mostró que el peso seco de saponinas es menor a 1%. Las evidencias indican que el mayor constituyente es el ácido ursólico (22).

◦ **Otros Extractos.**

Las hojas de *L. tridentata* tratadas por éter de petróleo, dieron 1.088% de una resina amarillenta y quebradiza, soluble en alcohol y éter sulfúrico. Su índice de saponificación es de 280. Por el éter sulfúrico dio 6% de otra resina de color oscuro, cuyo índice de saponificación es 159. Tratadas directamente por éter sulfúrico se obtuvo 13% de resinas. Tratada por el alcohol después de ser disuelta en los disolventes anteriores dio 12% de una resina negruzca que presenta un índice de saponificación de 306. También contiene 10% de tanino. Por tratamiento acuoso se obtiene un extracto en proporción de 7% a los 50°C y 9% a la ebullición. Este extracto tiene acción disolvente sobre el carbonato y sulfato de calcio, por lo cual tiene aplicación como desincrustante de calderas.

No evita la formación de las incrustaciones, pero facilita su desprendimiento (16, 17).

• USOS AGRÍCOLAS E INDUSTRIALES.

Por la abundancia del arbusto de *L. tridentata* en los desiertos de la República Mexicana (aproximadamente el 25% de la superficie total), y por consideraciones socioeconómicas, se han realizado estudios intensivos, para obtener materias primas. Hasta el momento las mejores aplicaciones definidas de la resina y del NDGA, son en las áreas del hule, antioxidantes y fungicidas agrícolas, de los polímeros termofijos, adhesivo para triplay y cartón comprimido. Es de particular interés su uso en el proceso de fibras naturales por sus propiedades antimicrobianas que evitan la descomposición y por otro lado como revelador fotográfico. Se han realizado estudios para determinar la actividad antioxidante del extracto clorofórmico en hules naturales y sintéticos. Es sobresaliente la actividad antioxidante de la resina durante el almacenaje de hules más que en el producto terminado (42).

Se encontró que la fracción clorofórmica y etefón (ácido 2-cloro etil fosfónico) de la resina, estimulan y aceleran el brote en árboles de durazno, reprimiendo casi en su totalidad la acción enzimática de la peroxidasa. La aplicación se debe efectuar antes de la caída de esta actividad (43).

La evaluación microbiológica de la resina muestra que posee actividad contra *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium spp* y otros hongos fitopatógenos (44).

• PROPIEDADES DEL NDGA

L. tridentata fue la fuente comercial de NDGA por más de 20 años. En 1943, Lundberg y cols. dedujeron sobre las bases de su estructura polifenólica, que el NDGA debería poseer propiedades antioxidantes. El NDGA, es efectivo para retardar la descomposición oxidativa de las grasas animales no saturadas, por lo que se utilizó como estabilizador en productos horneados. El ácido ascórbico aumenta este efecto. Los carotenos en las grasas son también protegidos contra cambios oxidativos por el NDGA al 0.001%, que impide la rancidez por varios meses. Sin embargo es menos efectivo como antioxidante cuando se emplea en grasas y aceites vegetales (16, 17, 22, 23).

El NDGA evita la oxidación del aceite de hígado de bacalao y los aceites de pescado fresco, ya que éstos son relativamente inestables y se enrancian cuando se exponen al aire. Esta oxidación se acompaña de destrucción de grandes cantidades de vitamina A, la cual se evita con el uso de NDGA. También se empleó con eficacia para preservar la leche en polvo empacada al

alto vacío, leche líquida, helados, mantequillas y en preparaciones farmacéuticas que contienen vitamina A y reserpina.

La adición de NDGA como antioxidante para grasas en concentraciones de 0.1% fue aprobada por el gobierno norteamericano en diciembre de 1943 y fue empleada en otros países para la protección de alimentos refrigerados y congelados, particularmente carne, aves y pescado, hasta que fue prohibida en 1970 (23).

El NDGA inhibe numerosos sistemas enzimáticos a concentraciones bajas, incluyendo peroxidasa, catalasa y alcohol etílico deshidrogenasa. La ácido ascórbico oxidasa, ácido D-amino-oxidasa, el sistema cicloforosa y ureasa son inactivados por las propiedades desnaturalizantes del NDGA. La lipoxidasa del frijol de soya es inhibida por NDGA y esto se debe no sólo a su interacción con el complejo lipoxidasa-linileato, sino también por la inhibición directa reversible sobre la enzima. La catalasa del champiñón y la del hígado de res son también inhibidas por NDGA (23).

En años recientes se ha descrito en la literatura que este compuesto tiene propiedades anti-inflamatorias e inhibe la producción de Oxido Nítrico sintetasa (45, 46)

- **USOS DE *Larrea* COMO PLANTA COMPLETA**

Las ramas y hojas de *L. tridentata* contienen grandes cantidades de proteínas y nutrientes (calcio, fósforo, sulfuro y potasio), lo que indica que la planta podría servir de forraje para el ganado. (23).

Larrea en forma de harina fue utilizada como alimento en algunos mamíferos (borregos, vacas y cabras), y se encontró que la carne y leche de estos animales era de buena calidad y de sabor normal. El extracto de harina de esta especie se aproximó en valor nutritivo a la alfalfa (23).

- **USOS DE *Larrea tridentata* EN HERBOLARIA**

Ha sido utilizada en medicina folklórica durante cientos de años por tribus indias del norte y sur de América (23). Sus usos más comunes son en los padecimientos de vías urinarias, entre los que destacan cálculos renales y de vejiga, así como litiasis biliar (18, 47,48). Se utilizan varios tipos de preparaciones, especialmente extracciones de las hojas y pequeñas ramas, a las cuales se les atribuyen propiedades para disolver los litos, tomando una o dos tazas al día del cocimiento de 5 gramos en 250 ml de agua (18). En el caso de malestares renales (dolor del riñón, "mal de orín", cistitis y "tapiaduria") se utilizan ramas jóvenes, raíces, hojas o corteza, en cocimiento administrado en ayunas (47). Contra los dolores reumáticos, se aplican fricciones con el

cocimiento descrito en la parte afectada, o sólo se coloca la planta soasada en la zona adolorida (18, 47). Otra forma de preparar un tonificante es colocar un cuarto de kilo en un litro de alcohol de caña al 96% y dejar macerar en un frasco sellado, aproximadamente por cinco días (Sr. José Ramos Corona, hierbero. Comentario personal). Para escoriaciones y heridas en la piel, se aplican fomentos calientes con el cocimiento, en la parte afectada (18). Con frecuencia se emplea para tratar esterilidad femenina mediante lavados vaginales con el cocimiento de las hojas o se toma un té durante nueve días antes y nueve después de la menstruación, por tres meses seguidos (47). Para quitar los "entuestos", se bebe una taza de té, preparado con las hojas cada vez que se presenta el dolor, o bien se administra durante 10 días, después de la regla, con la finalidad de regularizar el sangrado o quitar los dolores menstruales (47). Como conceptivo cuando las mujeres están "descompuestas de la matriz por enfriamiento", se ingiere un té preparado con gobernadora, manzanilla y canela, además de dar un masaje para calentar a la paciente (47). En otra fórmula para este padecimiento, en un litro de agua se ponen a cocer una cucharada sopera de gobernadora, una de garañón y otra de esculcona y se consume como agua de uso (Sr. José Ramos Corona, hierbero. Comentario personal). Suelen utilizarse las raíces, ramas o corteza en cocimiento como

abortivo. Contra la anemia, "catarro", diabetes, dolor de cabeza, tos, úlcera, uretritis, hipertensión e infecciones en los pies, se sugiere beber el cocimiento de las raíces, ramas o corteza, en lugar de agua, hasta recuperarse (47). Con este mismo cocimiento se frota el área adolorida o es usado en baños para tratar hemorroides (47). Cuando se tiene mala digestión o dolor de estómago se ingiere la infusión de las ramas o se aplican calientes sobre el vientre. En "hinchazones" o "inflamaciones del cuerpo" se colocan fomentos calientes con la infusión de las hojas. En caso de mareos, se machacan las hojas y se dan a oler. Si se tiene fiebre, se hierva la planta completa y se dan baños de cuerpo entero. Para lograr una buena cicatrización, se deja hervir la planta hasta que adquiera consistencia de miel, para aplicarla sobre golpes y heridas. Se considera útil en dolores musculares y contra el paludismo (47). Se utiliza también contra tuberculosis, cáncer, sífilis, "frialidad", "calambres intestinales", como "estimulante de orina", analgésico, antiséptico, expectorante y emético. Las hojas procesadas de *Larrea* se venden en forma de tabletas, en tiendas naturistas de E.U.A., como suplemento dietético. Sus productores afirman que estas tienen "muchas propiedades benéficas" (23).

• ESTUDIOS DE *Larrea tridentata* COMO PLANTA
MEDICINAL

Se han descrito diversas propiedades antimicrobiales efectivas del NDGA contra *Salmonella*, *Penicillium* y con alta toxicidad para *Tetrahymena pyriformis*. También se conoce como analgésico, vasoconstrictor e inhibidor de formación de caries dental en hamsters (23).

Por otro lado se ha analizado la resina de la planta y el NDGA, con la finalidad de demostrar su posible actividad antiamebiana. La resina se obtuvo por tres métodos:

- Acuosa
- Clorofórmica
- Etanólica

Los experimentos consistieron en la observación del crecimiento de trofozoitos cultivados axénicamente, de la cepa HM-2: IMSS de *Entamoeba histolytica*, y de las alteraciones ocurridas en presencia de los compuestos en estudio. Los resultados con los tres tipos de resina mostraron inhibición del crecimiento de los cultivos. La etanólica y la clorofórmica fueron más activas que la acuosa (49).

Se ha demostrado que los extractos acuosos y de éter de petróleo presentan actividad antihelmíntica en pollos infestados con *Eimeria tenella* y actividad antibiótica y antimicótica. El extracto etanólico de las ramas ejerció una actividad antibiótica sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus faecalis* pero no sobre *Escherichia coli* y *Candida albicans*. (47).

• ESTUDIOS TÓXICOS DE *Larrea tridentata*

El NDGA fue empleado hace algunos años como antioxidante de alimentos en E.U.A. Investigaciones realizadas a finales de 1968, mostraron que el NDGA a 0.5 a 1.0% en el alimento para ratas por 74 semanas producía retículoendoteliosis quística de nódulos linfáticos y de los riñones a nivel del epitelio tubular (50). En otro estudio las ratas alimentadas con 2% de NDGA en la dieta por 6 semanas tuvieron cambios patológicos similares (50). Por ello fue prohibido su uso en alimentos por la *Food and Drug Administration* de los E.U.A. (FDA) (23).

Los extractos acuosos y metanólicos de la raíz ejercieron una acción citotóxica al ser probados en cultivos *in vitro* de células humanas obtenidas de carcinoma-9KB y células leucémicas tipo p-388. Se describe que esta planta provoca el envenenamiento de borregos cuando se ingiere durante años. (47).

En otro estudio realizado en hamsters dorados que ingirieron una dieta colelitogénica y recibieron extracto hidroalcohólico desecado y pulverizado de hojas de *L. tridentata* al 4% durante 70 días con la finalidad de prevenir la colelitiasis, se observó una marcada reducción del peso, mayor irritabilidad, agresividad e hipoplasia testicular y de las glándulas sexuales accesorias. (51).

En un caso clínico se describió que un varón de 80 años de edad afectado con melanoma mostró regresión del tumor después de consumir té de *L. tridentata* (50).

Otro caso clínico describe a una paciente de 56 años de edad con enfermedad quística renal y adenocarcinoma quístico de los riñones, asociada al consumo por tiempo prolongado de té de gobernadora (50).

Apartir de los años 90's, se han publicado varios estudios de asociación de hepatitis y consumo de *L. tridentata*, al ser ésta ingerida como suplemento dietético antioxidante por los humanos (52).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

**EL COCIMIENTO DE *Larrea tridentata* ¿ REDUCE LA
FORMACIÓN DE CÁLCULOS VESICALES EN UN
NUEVO MODELO DE UROLITIASIS EN RATA?**

JUSTIFICACIÓN

El cocimiento de *Larrea tridentata* se utiliza en la herbolaria tradicional. Este tipo de terapia alternativa, señala que su uso regular puede "deshacer" los cálculos urinarios en los humanos. Por otro lado se describe en la literatura que su uso indiscriminado es potencialmente tóxico (23, 47, 50, 52), por lo que es fundamental corroborar en un principio el efecto de esta planta en la prevención de urolitiasis y en su caso, proceder al estudio de sus efectos tóxicos. Este trabajo se orientó a resolver el primer problema, con la caracterización inicial de un modelo *in vivo* de urolitiasis en rata, el cual fue predecible en el tiempo y cuantificable en la producción de los cálculos a corto plazo.

HIPÓTESIS

EL COCIMIENTO INGERIDO DE *Larrea tridentata* REDUCE LA FORMACIÓN DE CÁLCULOS VESICALES EN UN NUEVO MODELO DE UROLITIASIS EN RATA.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Diseñar y validar un modelo de urolitiasis experimental en rata, para evaluar el efecto reductor de *Larrea tridentata* sobre la formación de cálculos vesicales.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Comparar la cantidad de urolitos producidos por dos técnicas quirúrgicas y tres materiales distintos de sutura.
2. Comparar el tiempo de formación de urolitos con cada una de las técnicas y materiales de sutura.
3. Hacer un seguimiento de la aparición de urolitos por un método no invasivo.
4. Evaluar la composición atómica de los urolitos por espectroscopía de dispersión de rayos X.
5. Determinar si existe un proceso de neoepitelización sobre la sutura intravesical.
6. Comparar radiográficamente la aparición de urolitos en las ratas, a los 45 días con y sin tratamiento de *Larrea tridentata*.

7. Conocer la posible influencia de factores asociados (infección urinaria, alteraciones hematológicas, diuresis, ingesta de agua y desarrollo corporal) en la evolución de los animales con y sin tratamiento.
8. Comparar la cantidad de material litiásico después de 95 días con o sin tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

• DISEÑO DEL MODELO

La litiasis fue inducida en 59 ratas macho Wistar (230-260 g de peso corporal), aplicando una serie de 15 nudos de sutura 5-0 dentro de la vejiga urinaria vía cistotomía o sólo un nudo atravesando la pared de la misma (Fig. 2).

Se evaluaron tres materiales de sutura con ambas técnicas: poliéster (Ethiflex, Ethicon Inc., Somerville, NJ), seda (Serrasilk, Serral, SA de CV, México), y catgut crómico (Davis & Geck, Cyanamid de México, SA de CV).

Previa tricotomía, se hizo una incisión suprapúbica por línea media de 25 mm bajo anestesia disociativa (ketamina HCl, 80 mg/Kg IP, y droperidol 2.5 mg/Kg IP). La orina fue aspirada directamente de la vejiga con una jeringa con aguja número 22 antes de aplicar la sutura correspondiente. El cierre del órgano se llevó a cabo con Cushing no perforante (catgut crómico 5-0). Se utilizó una sutura continua con poliglactina (Vicryl, 5-0, Ethicon, J & J, México) para cerrar músculo y piel.

A los 30, 60 y 90 días postoperatorios se realizó un urograma excretor. Bajo anestesia disociativa (como la ya descrita), se administró 1 ml de medio de contraste (Conray, Mallinckrodt Labs.), vía vena dorsal del pene. La presencia de medio de contraste dentro de la vejiga, se confirmó con fluoroscopia lo cual usualmente tomó de 5 a 8 minutos, en este momento se obtuvieron radiografías

en posición dorsoventral y lateral, a las que se les asignó un valor diagnóstico: positivo, negativo o dudoso a la presencia de cálculos. Las tomas fueron obtenidas en una unidad General Electric DXD-350II a 40 KV y 5 mas, a un punto focal de 300. Las interpretaciones fueron realizadas por tres observadores independientes y sólo se consideró positiva cuando las tres interpretaciones así lo indicaron.

Los animales con las tres interpretaciones positivas a la presencia de piedras en la vejiga, recibieron bajo anestesia fija una dosis letal intravenosa de KCl para llevar a cabo autopsia. A los 90 días se realizó un urograma a los animales restantes, y se sacrificaron independientemente del resultado de la imagen radiográfica.

Se permitió que los urolitos obtenidos en la autopsia se desecaran a temperatura ambiente por dos semanas, antes de ser pesados. Algunas piedras representativas de cada sutura para cada grupo fueron analizadas para su composición por espectroscopía de dispersión de rayos X, y fotografiadas con microscopio electrónico de barrido (Jeol JSM-5400 LV Scanning Microscope). Para los grupos con solamente una lazada de sutura atravesando la pared de la vejiga, se obtuvieron muestras de la misma para su fijación con formol al 10%,

inclusión en parafina, corte de 6 μm y tinción con hematoxilina y eosina para confirmar neo-epitelización por histopatología.

Todos los animales tuvieron libre acceso a agua y alimento para roedores de laboratorio (Purina Nutricubos, Manna Pro Corp. Kansas), durante todo el estudio.

Los animales fueron tratados de acuerdo con los requerimientos institucionales y legales de México. El protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación Local del Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO).

• ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los porcentajes de ratas positivas para cada grupo fueron comparados con la prueba χ^2 . Se procedió a comparar a todos y cada uno de los grupos con análisis de varianza (ANDEVA), para el tiempo al diagnóstico positivo en urograma. Se hizo lo mismo para las diferencias en el peso promedio de las piedras urinarias. Todos los cálculos fueron realizados con el programa Epi-Info 6 del CDC de Atlanta, GA, y las diferencias fueron consideradas significativas cuando $p < 0.05$.

- **EVALUACIÓN DEL COCIMIENTO DE *Larrea tridentata***

Se utilizaron 20 ratas sanas, machos adultos (aproximadamente dos meses y medio de edad, y un peso promedio de 250 g) de la cepa Wistar, mantenidas bajo condiciones de bioterio, de acuerdo con las normas institucionales e internacionales para el manejo de animales de laboratorio. Todas se alimentaron con la dieta para roedores ya mencionada y tuvieron libre acceso a agua filtrada.

Los animales fueron divididos aleatoriamente, en dos grupos de 10 cada uno. Los del grupo experimental, recibieron 1 ml del cocimiento de *L. tridentata* a través de sonda orogástrica tres veces al día, cinco días antes de la aplicación de sutura y durante los siguientes 90 días. En el grupo control se llevó a cabo el mismo manejo que el experimental, excepto que se les administró 1 ml de agua potable como vehículo.

- **MANEJO QUIRÚRGICO**

Todas las ratas recibieron una serie de 15 nudos de catgut crómico 5-0 (U202 Ethicon, aguja atraloc RB1. Davis & Geck, Cyanamid de México, SA de CV) fija a la pared interna de la vejiga. Enseguida se procedió a cerrar el órgano con el mismo material, con surjete continuo. La pared abdominal se cerró con poliglactina 5-0 (Vicryl, Ethicon, J & J, México), con surjete continuo. El cierre

de la piel se realizó con el mismo material con puntos continuos de colchonero.

• OBTENCIÓN DE LA PLANTA

La planta deshidratada se obtuvo en el mes de enero en la hierbería "Santa Lucía" cuyo propietario es el Sr. José Ramos Corona, ubicada en el interior del Mercado Corona del centro de la Ciudad de Guadalajara Jal. El propietario informó que la colecta de la planta había sido realizada recientemente en la Huasteca de San Luis Potosí. Para su identificación botánica, se envió una muestra al Herbario del IMSS, ubicado en México, D.F. Ésta fue identificada como *L. tridentata*, y quedó registrada con el número de referencia internacional IMSSM 11317 (Fig. 3).

• PREPARACIÓN DEL " TÉ "

En un matraz de 500 ml se pusieron a hervir 230 ml de agua potable hasta iniciar la ebullición. En este momento se agregaron 2.5 g de la planta permitiendo continuar la ebullición por 5 minutos. Al término de este periodo se retiró el matraz del fuego y se tapó con una bolsa de papel para evitar en lo posible pérdida de vapor, dejando reposar por dos minutos. Posteriormente se filtró en una gasa de algodón de cuatro capas, dejando enfriar a temperatura ambiente. Este procedimiento se llevó a cabo en cada toma, y siempre se utilizó la misma planta de colecta (53).

Los grupos fueron evaluados a los 45 días posquirúrgicos, por medio de un urograma excretor, ya descrito. Se llevó a cabo la toma de urografías en fase vesical.

Los pesos corporales fueron registrados semanalmente y el consumo de agua fue valorado cada 24 h para ambos grupos, durante todo el periodo experimental.

A los 95 días de estudio todos los animales se sometieron a anestesia general y se obtuvo un promedio de 7 ml de sangre estéril por punción cardiaca. Posteriormente se sacrificaron por la misma vía con una sobredosis de KCl. Se realizó autopsia para obtener los cálculos, cuyos pesos se obtuvieron en una balanza analítica, previa deshidratación al aire libre durante dos semanas.

En el momento de la autopsia, se tomó muestra de orina por punción de la vejiga con jeringa estéril de 3 ml y aguja no. 21 para realizar urocultivo y examen general de orina final.

• ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las diferencias entre grupos para el número de ratas positivas al urograma a los 45 días, así como por autopsia al final del estudio se midieron con la prueba χ^2 y para el peso de los cálculos mediante prueba t de Student. En esta última se eliminaron los valores máximo y mínimo para cada grupo.

La evolución de los pesos corporales en el tiempo para cada grupo se muestra como promedio \pm ESM (error estándar de la media) por cada semana. Se realizó una comparación de la relación de consumo de agua entre peso corporal entre grupos. Finalmente los resultados de los exámenes de laboratorio tales como: biometría hemática, química sanguínea, urocultivo y análisis general de orina (los dos últimos basales y finales), se compararon mediante prueba *t* de Student.

• CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

No se utilizaron ratas con datos clínicos de enfermedad o que no alcanzaran el peso y la edad requeridas. Se excluyeron aquellas en las que hubo fallas técnicas en el procedimiento quirúrgico, o mortalidad anestésico-quirúrgica.

VARIABLES DE ESTUDIO

VARIABLE	ABREVIATURA	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TÉCNICA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA	VALORES NORMALES
Independiente					
→ Administración oral de té		Dosis de 1.0 ml de té de <i>L. tridentata</i> , por sondo orogástrico tres veces al día			
Dependientes					
→ Presencia de urolitos.		Contenido de urolitos en la vejiga.	Observación en urograma excretor o directa por autopsia.	Positivo Negativo Dudoso	
→ Peso de los urolitos		Peso total de todos los litos y arenillas por rata después de dos semanas de desecación al aire. Incluye peso de la sutura, si está presente.	Balanza analítica	g	
VARIABLES DE CONTROL.					
→ Peso corporal		Peso promedio de las ratas de cada grupo medido semanalmente	Báscula convencional para ratas.	g	De acuerdo a la curva de crecimiento del grupo control
→ Consumo de agua		El promedio de consumo total de agua por grupo cada 24 h.	Diferencias de volumen en bebedero graduado.	ml	
→ Infección bacteriana		Presencia de bacterias en orina obtenida por cistocentesis.	Urocultivo	Número de colonias por ml	< 10,000
→ pH urinario		Grado de acidez de una muestra individual de orina	Tiras reactiva	Unidades de pH	5-6
→ Albúmino en orina		Concentración de albúmina en una muestra individual de orina		g/l	0

Continuación.....Variables de Estudio.

VARIABLE	ABREVIATURA	DEFINICION OPERACIONAL	TÉCNICA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA	VALORES NORMALES
Variables de Control.					
→ Glucosa en orina		Concentración de glucosa en una muestra individual de orina	Tira reactiva o si es positiva se cuantifica por colorimetría	g/l	0 (en ayunas)
→ Cetonas urinarias		Concentración de cetonas en una muestra individual de orina	Tira reactiva	Positiva Negativa	Negativo
→ Hemoglobina urinaria	Hb	Concentración de hemoglobina en una muestra individual de orina	Tira reactiva	Positiva Negativa	Negativa
→ Leucocitos urinarios	Leucos	Número de leucocitos en una muestra individual de orina	Microscopio óptico	Células por campo	<10
→ Eritrocitos en orina	Eritro	Número de eritrocitos en una muestra individual de orina	Microscopio óptico	Células por campo	0
→ Cilindros urinarios		Número de cilindros en una muestra individual de orina	Microscopio óptico	Células por campo	0
→ Hemoglobina sanguínea	Hb	Concentración de Hb en muestra de sangre individual	Proporcional a hematocrito, en tablas específicas	g/l	12-15
→ Hematocrito	Hto	Porcentaje de eritrocitos en sangre total	Microcentrifuga	%	38-47
→ Concentración media de hemoglobina corpuscular	CMHG	Concentración de hemoglobina en eritrocitos de sangre intracardiaca individual	Relación aritmética entre la hemoglobina y el hematocrito	%	32-36
→ Leucocitos		Número de leucos en muestra de sangre intracardiaca individual	Recuento en cámara de Neubauer con Microscopio óptico	%	5,000-10,000

Continuación.....Variables de Estudio.

VARIABLE	ABREVIATURA	DEFINICION OPERACIONAL	TÉCNICA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA	VALORES NORMALES
Variables de Control.					
→ Linfocitos	Linfo	Porcentaje de linfocitos en muestra de sangre intracardiaca individual	Conteo de células con microscopio óptico	%	30-40
→ Monocitos		Porcentajes de monocitos en muestra de sangre intracardiaca individual	Microscopio óptico	%	1-3
→ Eosinófilos	Eosino	Porcentaje de eosinófilos en sangre intracardiaca individual	Microscopio óptico	%	1-3
→ Basófilos	Baso	Porcentaje de basofilos en sangre intracardiaca individual	Microscopio óptico	%	0-1
→ Segmentados	Segm	Porcentaje de segm en muestra de sangre intracardiaca individual	Microscopio óptico	%	40-50
→ En banda	Bandas	Porcentaje de bandas en muestra de sangre intracardiaca individual	Microscopio óptico	%	0-3
→ Glucosa sanguínea		Niveles de glucosa en muestra individual de sangre intracardiaca	Colorimetría en espectrofotómetro convencional	mg. %	65-115
→ Urea sanguínea		Niveles de urea en muestra individual de sangre intracardiaca	Colorimetría en espectrofotómetro convencional	mg. %	16-45
→ Creatinina sérica		Niveles de creatinina en muestra individual de sangre intracardiaca	Colorimetría en espectrofotómetro convencional	mg. %	0.2-0.4

RESULTADOS

• DISEÑO DEL MODELO

El Cuadro 3 muestra los datos generales y los resultados para cada grupo experimental. La Gráfica 1 muestra el porcentaje de ratas positivas para cada grupo. Ninguna de las ratas en el grupo PP (una lazada de poliéster en la pared) desarrolló piedras urinarias durante el período de 90 días de observación. Sin embargo todas las ratas del grupo P15 (15 nudos de poliéster) desarrollaron urolitos durante el estudio. Los grupos P15 y C15 (15 nudos de catgut crómico) fueron los más litogénicos en términos del número de ratas afectadas.

La Gráfica 2 muestra el tiempo promedio, en días, para un diagnóstico positivo, radiográfico y/o en autopsia. Los grupos S15 (15 nudos de seda), C15 y CP (una lazada de catgut crómico en la pared) formaron urolitos más pronto, en un promedio de 28.5, 39.2 y 35.4 días postoperatorios, respectivamente sin diferencia estadística significativa entre cada uno. Los grupos P15 y SP (una lazada de seda en la pared) fueron significativamente diferentes de los grupos anteriores, y desarrollaron urolitos cerca de dos y tres meses después de la cirugía, respectivamente.

El Cuadro 3 muestra el peso promedio de las piedras urinarias para cada grupo. Esto incluye el peso de las suturas, cuando éstas estuvieron presentes. Como no fue factible contar las piedras y arenillas, el peso total de todos los cálculos

fue usado para medir la cantidad de urolitos producidos. Los rangos de pesos estuvieron entre 0.008 y 1.502 g, y no hubo diferencias estadísticas entre grupos.

La Figura 4 muestra imágenes de microscopía electrónica de barrido para las distintas piedras urinarias. Las piedras de fosfato de calcio muestran múltiples cristales sobre la superficie, mientras las piedras de fosfato de magnesio tuvieron un aspecto más regular.

El porcentaje de composición atómica de dos piedras de poliéster, dos de seda y cuatro de catgut crómico fue evaluado por espectroscopía de dispersión de rayos X. Dos del grupo de catgut crómico fueron de fosfato de calcio, y las restantes fueron de fosfato de magnesio.

La Figura 5 muestra dos urogramas excretorios (positivo y negativo). La presencia de material de contraste fue útil para localizar exactamente la vejiga urinaria, e identificar cálculos de densidad baja sobre el interior. En esta y en experiencias previas, se obtuvieron 119 urogramas en ratas de los cuales sólo uno fue falso negativo y tres fueron falsos positivos a litiasis.

La Figura 6 muestra el proceso de neo-epitelización sobre la sutura aplicada a través de la pared de la vejiga, en una imagen de microscopio de luz. Primero, se observó hiperplasia del endourotelio, junto con engrosamiento de la

membrana basal. Esta fue seguida de una pérdida de continuidad del epitelio de transición, con metaplasia hasta la capa muscular. Finalmente, la lámina propia y el músculo mostraron reacción inflamatoria, con el material de sutura aislado del lumen de la vejiga urinaria.

- **EVALUACIÓN DEL COCIMIENTO DE *Larrea tridentata*.**

En el grupo experimental desarrolló cálculos el 100% de las ratas, mientras que en el grupo control, sólo el 90%. Se apreció mayor dispersión en los pesos de litos del grupo experimental, mientras que en el control fue más homogéneo. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre grupos para el peso de los cálculos. Esto se muestra en la Gráfica 3.

Con respecto al diagnóstico radiológico de urolitiasis a los 45 días, el grupo experimental mostró un 20% de animales positivos y 70% dudosos, mientras que el grupo control mostró un 40% positivos y 50% dudosos. En ambos grupos se presentó un 10% de animales negativos (Gráfica 4). No se detectaron diferencias significativas entre grupos.

La Gráfica 5 muestra el peso corporal promedio para las ratas de cada grupo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos a lo largo del estudio.

En la Gráfica 6, se muestran las proporciones del consumo de agua total obtenidos para cada grupo, comparados con el peso corporal total de ambos grupos. No se encontraron diferencias significativas entre grupos.

El Cuadro 4 muestra los valores obtenidos de las lecturas a las 48 h, del urocultivo basal y del final a las 24 h, tanto para el grupo experimental como para el control. El Cuadro 5 muestra los valores basales del examen general de orina, para ambos grupos. El Cuadro 6 muestra los valores finales del examen general de orina en ambos grupos. El cuadro 7 muestra los valores de la biometría hemática para ambos grupos. El cuadro 8 muestra los valores de química sanguínea en los dos grupos.

No hubo diferencias significativas entre grupos para ningún parámetro en los estudios anteriores.

DISCUSIÓN

• DISEÑO DEL MODELO

En este trabajo se confirmó que las suturas tanto absorbibles como no absorbibles, dentro de la vejiga urinaria, son litogénicas, y que la severidad de la formación de cálculos difiere con ambas técnicas y con el material empleado.

Se ha dicho que las suturas no absorbibles son más litogénicas que las absorbibles (27). Sin embargo, en este estudio, la sutura absorbible empleada (catgut crómico) fue la más litogénica, mientras el poliéster, un material no absorbible, fue el menos litogénico. D' Silva y cols. realizaron observaciones similares (27).

Se utilizó un urograma excretor para identificar la presencia de piedras dentro de la vejiga de forma no invasiva. Esta es una herramienta valiosa para confirmar la presencia de cálculos urinarios, de manera independiente del modelo utilizado (sutura u otro). Es posible obtener imágenes claras con mínimo riesgo para el animal. En las series reportadas por otros y en este laboratorio, no se han observado complicaciones con el empleo de materiales de contraste intravenosos. Metha y cols. no reportaron complicaciones en otras series de ratas a las cuales se les hizo un urograma excretor (54).

Los urogramas laterales fueron útiles para el diagnóstico de cálculos vesicales, mientras que las imágenes dorso-ventrales no, debido a una superposición de

imagen de la columna vertebral. Esto implica una ventaja, ya que se requiere un sólo disparo para obtener un diagnóstico confiable.

Es importante mencionar que se utilizaron sólo ratas macho. En experiencias previas, cuando se utilizaron ratas hembras para producir urolitos con nuestra técnica, sólo pocos animales presentaron piedras, sin tener en cuenta la sutura empleada. La uretra de las hembras es corta y recta, por lo que es más fácil que se liberen los litos pequeños. Se ha demostrado también que los machos son más propensos a formar urolitiasis debido a la presencia de testosterona circulante (34). En cuanto al presente modelo, no es posible determinar si las diferencias en la formación de litos se deben a niveles hormonales, características anatómicas o ambas. También es importante mencionar que los machos presentan una vena dorsal del pene muy accesible para la administración del medio de contraste por punción. El empleo sólo de machos es bastante bueno y los animales no se mostraron molestos, al menos durante los 90 días de observación.

Sólo del 1 al 10% de las piedras del tracto urinario humano contiene fosfato de magnesio y 9% fosfato de calcio. Los más comunes (60 a 70%) contienen oxalato de calcio (55). Como los resultados muestran predominantemente fosfato de calcio o magnesio, el modelo debe ser considerado sólo

representativo para este tipo de composición.

Las piedras estudiadas por microscopía de barrido no fueron seccionadas. Las capas internas pudieran haber sido de otros materiales (1). Al igual que en este trabajo, D' Silva y cols. encontraron piedras de fosfato de calcio cuando emplearon catgut crómico (27). Este modelo es entonces una contribución sólo para un tipo específico de urolitos, que lo hace una alternativa a estudios hechos con otros modelos. Varios estudios farmacológicos o etnobotánicos pudieran usar diferentes modelos para identificar los usos potenciales de sustancias para tipos específicos de cálculos.

Como el criterio para el sacrificio de los animales fue una radiografía con tres interpretaciones positivas, las piedras no fueron obtenidas en los mismos períodos en todos los animales. Significa que los urolitos obtenidos después del primer urograma fueron más pequeños de lo que hubieran sido después de 90 días. Esto es relevante para el grupo S15, el cual tuvo un promedio de 57 días para un urograma positivo, comparado con el grupo C15 en que el promedio fue de 89 días. El peso total de las piedras en el grupo S15 pudiera haber sido más alto si se hubieran obtenido más tarde.

Una serie de 15 nudos es más calculogénica que un sólo nudo atravesando la pared de la vejiga, lo cual coincide con la noción de que la cantidad de material

de sutura presente en el lumen del tracto urinario es proporcional a la cantidad de piedras formadas. Sin embargo, el hecho de que un sólo nudo es completamente cubierto con epitelio, y por lo tanto aislado del tracto urinario, hace de esta técnica una buena elección si se desea que la presencia del estímulo litogénico sea sólo temporal.

• EVALUACIÓN DEL COCIMIENTO DE *Larrea tridentata*

En este trabajo, se uso la planta completa puesto que es la forma tradicional que se utiliza en la herbolaria para tratar la litiásis y otras enfermedades (47).

No se ha descrito una dosis terapéutica definida para los diversos padecimientos. Se recomiendan preparaciones y dosis muy diversas (18). A pesar de ello, en este estudio se consideró un promedio de las dosis utilizadas en la herbolaria.

Se ha descrito que los tratamientos con fitofármacos, no deben de prolongarse más allá de tres meses, debido a que la acumulación de estas sustancias podrían tener efectos adversos en el individuo. Se procuró que el tratamiento fuera lo más cercano posible a como se emplea en la medicina popular, con la finalidad de observar de manera directa si el cocimiento de *L. tridentata* tenía un efecto reductor sobre los litos en condiciones de un medio ambiente casi idéntico cuando se encuentran depositados en la vejiga urinaria humana. Ya que

en modelos *in vitro* sería difícil, controlar las condiciones de pH, temperatura, cinética y otros factores característicos del tracto urinario.

Una vez diseñado y valorado el modelo de urolitiasis con la técnica quirúrgica y material de sutura más litogénico (Cuadro 3), se procedió a evaluar el efecto reductor de *L. tridentata* sobre la formación de cálculos. Los datos obtenidos de las variables analizadas fueron los siguientes:

La imagen radiográfica a los 45 días de estudio, mostró tendencia a retardar la formación de cálculos en el grupo experimental. sin embargo no hubo diferencia estadística significativa, cuando se comparó con su control. Sólo pudiera haber una significancia si la n de la muestra se incrementara. Es importante mencionar que el grupo experimental mostró el mayor número de ratas a diagnóstico radiológico dudoso, esto hace suponer, que probablemente en ese momento, los urolitos presentaran un tamaño mínimo, por lo que dificultó su observación en la radiografía. Por otro lado los urográmas realizados dieron un margen de seguridad para su observación en el tiempo señalado, de acuerdo a los resultados obtenidos del modelo (Cuadro 3).

Los pesos corporales de los animales no se mostraron diferentes entre los grupos, de acuerdo a los parámetros ya establecidos en las curvas de crecimiento normal para roedores con respecto a la edad.

La dosis administrada de *L. tridentata*, no altero las condiciones fisiológicas de los animales y estos no se mostraron irritados durante el experimento. Esta respuesta favorable aparentemente no modifica alguna o ninguna de las vías metabólicas del organismo que pudieran provocar inanición en las ratas en un momento dado; ya que en un estudio realizado por Granados y cols. donde administraron un extracto hidroalcohólico de *L. tridenta* al alimento de hamsters, con alto riesgo de desarrollar cálculos biliares, encontraron una marcada reducción de peso corporal, entre otra serie de efectos adversos (51). Como ya se mencionó en este estudio, la administración de la planta en estas condiciones, no alteró los parámetros de crecimiento en la rata. Sin embargo, no es posible distinguir la influencia de las diferencias en otros estudios, con la cantidad ingerida o el tipo del extracto y la especie animal estudiada.

Por otro lado, se especuló que si el consumo de *L. tridentata* en forma de té tuviera un efecto diurético en los animales, tal efecto pudiera explicar el mecanismo de "eliminación" de los urolitos; pues ésta misma propiedad lo tienen otras plantas, tales como la "cola de caballo", los "pelos de elote" y otras más que son populares para tratar la litiasis en la medicina herbolaría (18). En un futuro, podría ser más útil controlar esta variable con el uso de jaulas metabólicas para cuantificar directamente la cantidad de orina producida en

forma individual, y verificar con exactitud si tiene o no efecto diurético.

En el análisis de orina y hematología, no se encontraron alteraciones de ningún tipo respecto al grupo control. En cuanto a las pruebas de laboratorio para detectar alteraciones fisiológicas renales, tales como cuantificación de urea y creatinina, estos presentaron valores normales; por lo que pudiera inferirse que no hubo daño renal; en comparación con otros estudios en los cuales se describieron efectos tóxicos renales (23, 50). Sin embargo, para confirmar lo descrito será necesario realizar una serie de estudios toxicológicos más sensibles y específicos, que arrojen una acertada información. Es importante mencionar que los valores de glucosa tanto en sangre como en orina se encontraron por arriba de los normales, ya que las ratas nunca estuvieron sometidas a ningún tipo de ayuno. Por otra parte el urocultivo final de orina presentó colonias de *Staphilococcus albus*, lo cual era de esperarse ya que la presencia de litos en el tracto urinario aumenta el riesgo de infecciones bacterianas, sin embargo, no puede descartarse contaminación por piel. En el análisis de orina se encontraron escasos y abundantes cristales de ácido úrico, que coinciden también con la presencia de litos. (Cuadro 4).

Finalmente, el peso seco de los urolitos para el grupo experimental indica que mostró una tendencia a formar cálculos al igual que su control (Gráfica 3). Esto

hace pensar que probablemente la dosis y concentración administrada de *L. tridentata*, no es la más indicada para inhibir la formación de cristales de fosfato de magnesio y/o calcio inducidos por catgut crómico. Es probable, que *L. tridentata*, actúe por vía metabólica para impedir la formación de cálculos y no que actué de forma directa sobre éstos. Por ello los datos obtenidos del modelo no pueden ser extrapolables en su totalidad, ya que su etiología litiásica está dada por un estímulo de origen mecánico y no metabólico como se presenta en la mayoría de los humanos. Pero que tampoco se evidenciaron efectos adversos durante el experimento, y que será necesario ampliar el estudio de esta planta con otros modelos. Para explorar estas posibilidades, se requiere de trabajos multidisciplinarios.

En resumen este trabajo sólo se concretó a observar lo que hoy la nueva metodología sobre la investigación de plantas medicinales propone para la producción de fitofármacos, la cual consiste en realizar estudios con las concentraciones y dosis de las plantas empleadas por los curanderos, hierberos, chamanes, etc. (Lozoya X. Conferencia Magistral del CIBO IMSS 1998).

CONCLUSIONES

1. El uso de materiales de sutura dentro de la vejiga urinaria de las ratas es un modelo efectivo de urolitiasis, predecible en el tiempo, en su composición y cantidad de piedras.
2. La serie de 15 nudos de catgút crómico, resultó ser la técnica y material de sutura más litogénica en un corto período de tiempo, en comparación al resto de los demás grupos.
3. El urograma excretor, es útil para confirmar la presencia de los urolitos en forma no invasiva en el tiempo.
4. El análisis de los urolitos por espectroscopía de dispersión de rayos X, indica que son de fosfato de calcio o magnesio.
5. Sólo la técnica de un nudo atravesando la pared, es cubierta completamente con epitelio y aislado del tracto urinario.

6. El cocimiento de *L. tridentata* administrado en las condiciones ya mencionadas, no provoca alteraciones clínicas, tampoco en el proceso normal de crecimiento de los animales, en la cantidad de agua ingerida ni en cambios en su comportamiento.

7. La dosis y concentración administrada de *L. tridentata* en forma de té, no disminuye la producción de urolitos de fosfato de magnesio y/o calcio en éste modelo.

BIBLIOGRAFIA

1. Neumann RD, Ruby AL, Ling GV, et al. **Ultrastructure and mineral composition of urinary calculi from horses.** *Am J Vet Res* 1994; 55: 1357-1367.
2. Huerkamp MJ, Dillehay DL. **Struvite uroliths in a male mouse.** *Lab Anim Sci* 1991; 41: 642-643.
3. Osborne CA, Lulich JP, Thumchai R, et al. **Diagnosis, medical treatment, and prognosis of feline urolithiasis.** *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 589-627.
4. Larson B. **Identifying, treating, and preventing bovine urolithiasis.** *Vet Med* 1996; 91: 366-377.
5. Gentz E, Harrenstien LA, Carpenter JW. **Dealing with gastrointestinal, genitourinary, and musculoskeletal problems in rabbits.** *Vet. Med* 1995; 90: 365-372.
6. Pugh CR, Rhodes HW, Biery DN. **Contrast studies of the urogenital system.** *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1993; 23: 281-306.
7. Coppo JA. **Incidencia de urolitiasis en animales domésticos del nordeste Argentino.** *Nord Med Vet* 1991; 61: 24-29.
8. Ruíz R, Segatore L, Poli G. **Urolitiasis.** *Nuevo diccionario médico.* Ed. Teide, Barcelona; 1984: 841; 924-925; 1280.
9. Patrick SJ, Resnick M. **Litiasis urinaria.** En: Tanagho EA, McAninch JW, Ed. *Urología general de Smith.* 10ª ed. *El Manual Moderno México;* 1995: 279-303.
10. Woolrich J. **Enfermedades del riñón, alteraciones del equilibrio hidroelectrolítico y ácido básico y padecimientos urológicos.** En: Jinich H, Ed. *Tratado de Medicina Interna.* México. *El Manual Moderno;* 1988: 570-580.

11. Epstein H. Nefrolitiasis. En: Thorn G, et al, Ed. **Medicina Interna de Harrison, Tomo II**. 5ª ed. México: Prensa Médica Mexicana; 1982: 1746-1748.
12. Voranunt S, Nuntaya, Indhira, et al. The effect of pumpkin seeds on inhibitors and promoters of urolithiasis in Thai adolescents. *J Med Assoc Thai* 1993; 576: 487-492.
13. Gordon WW. Nefropatías y trastornos de la función renal. En: Harvey, Johns, Ross, Ed. **Tratado de Medicina Interna**. 19 ed. Interamericana, México; 1978: 163-167.
14. Anonymous. Mechanism of urilitiasis in vitamin A-deficient rats. *Nutr Rev* 1991; 49: 249-250.
15. Ortíz F. Litiasis de las vías urinarias, (2a. parte). *Rev Fac Med UNAM* 1977 20:29-43.
16. Martínez M. **Las plantas Medicinales de México**. 6ª. ed. México. 1990: 143-144.
17. Martínez M. **Plantas útiles en la flora Mexicana**. México. Ed. Botas; 1959: 268-270.
18. Atzin J. **Antiguo Recetario Medicinal Azteca (Cúrese con plantas y yerbas)**. Ed. Gómez Gómez Hnos México; 1988: 59-60.
19. Zolla C, Medellín CE. **Las Organizaciones de Médicos Indígenas Tradicionales y las Plantas Medicinales**. En: Kumate J, Viesca TC, Sanfilippo BJ, et. al. **La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana**. Secretaría de Salud: México; 1993:119-128.
20. Vargas LA, Casillas LE. **La Herbolaria Ante Los Organismos Oficiales de Salud**. En: Kumate J, Viesca TC, Sanfilippo BJ, et. al. **La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana**. Secretaría de Salud: México; 1993:247-254.

21. Meckes M. **Investigación de las Plantas Medicinales en México. Avances y Perspectivas.** En: Kumate J, Viesca TC, Sanfilippo BJ, et al. **La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana.** Secretaría de Salud: México; 1993:69-73.
22. Mabry TJ, Bohnstedt ChF. **Larrea: a chemical resource.** En: Campos LE, Mabry TJ, Tavizon SF. **Larrea.** 2a. ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México; 1981:217-235.
23. Timmermann BN. **Larrea: Potential uses.** En: Campos LE, Mabry TJ, Tavizon SF. **Larrea.** 2a. ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México; 1981:237-245.
24. Evans JWH, Chapple CR, Ralph DJ, et al. **Bladder calculus formation as a complication of the stamey procedure.** Br J Urol 1990; 65: 580-582.
25. Kaminski JM, Katz AR, Woodward SW. **Urinary bladder calculus formation on sutures in rabbits, cats and dogs.** Surg Gynecol Obste 1978; 146: 353-357.
26. Leunissen KM, Weil EH, Mooy JMV, et al. **Bladder stones as an unusual cause of posttransplant macroscopic hematuria.** Transplantation 1987; 44: 582-583.
27. D' Silva M, Gittes RF, Wolf P, et al. **Rat kidney transplantation update with special reference to vesical calculi.** Microsurgery 1990; 11: 169-176.
28. Zupancic-B, AntabakaA, Bradic-I, et al. **Urolithiasis in childhood: Surgery and lithotripsy.** Acta-Med-Croatica 1997; 51: 221-3.
29. Roumeguere-T, Vaessen-C, Simon-J, et al. **Calculi: interventional treatment.** Acta-Urol-Belg 1997 65: 23-29.
30. Campos LE, Mabry TJ, Tavizón FS. En: **Larrea.** 2a. ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México; 1981:12-15.

31. Edmund W, Kaerine S, Wilson S. La ciencia de las plantas y su historia. En: *Botánica principios y problemas*. Edmund W, Wilson S, Editorial CECSA 2^{da} ed. México 1981: 25-32.
32. Romagosa J., Rosales S. *Atlas de Medicina Naturista y Alternativa* Ed. Cultural S.A., Madrid, España, 1997 (Introducción).
33. Grases F, Ramis M, Costa-Bauzá A, et al. Effect of *Herniaria hirsuta* and *Agropyron repens* on calcium oxalate urolithiasis risk in rats. *J Ethnopharmacol* 1995; 45: 211-214.
34. Lee, Huang YH, Huang WC, et al. Testosterone enhances whereas estrogen inhibits calcium oxalate stone formation in ethylene glycol treated rats. *Urology* 1996; 156: 502-505.
35. Poonkuzhali B, Saraswathi CP, Rajalakshimi K. Effect of uric on sodium oxalate-induced urolithiasis in rats-biochemical and histological evidences. Abstract. *Indian J Exp Biol* 1994; 32: 20-24.
36. Toyoda K, Imaida K, Shirai T, et al. Relationship between bisacodyl-induced urolithiasis and rat urinary bladder tumorigenesis. *J Toxicol Environ Health* 1993; 39: 59-78.
37. Poonguzhali PK, Chegu H. The influence of banana stem extract on urinary risk factors for stones in normal and hyperoxaluric rats. *Br J Urol* 1994; 74: 23-25.
38. Anand RG, Patnail K, Kulshreshtha DK, et al. Activity of certain fractions of *Tribulus terrestris* fruits against experimentally induced urolithiasis in rats. *Indian J Exp Biol* 1994; 32: 548-552.
39. Prasad KV, Bharathi K, Srinivasan KK. Evaluation of *Musa (Paradisiaca* Linn. *cultivar*) "Puttubale" stem juice for antilithiatic activity in albino rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 1993; 37: 337-341.
40. Stein-Werblowsky R, Ablin RJ. Sperm-induced urolithiasis in the rat. *Eur J Epidemiol* 1994; 10: 605-607.

41. Rzedowski J, Calderón de Rzedowski G. Flora del Bajío y de Regiones adyacentes. Familia Zygophylaceae 1994; Fascículo 30:11-15.
42. Belmares H, Barrera A, Hernández F, et. al. Research and development of *Larrea tridentata* as a source of raw materials. En: Campos LE, Mabry TJ, Tavizon SF. *Larrea*. 2a. ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México; 1981:247-276.
43. Gutiérrez GR, Quezada MR. Creosote bush resin: a possible dormancy breaking agent. En: Campos LE, Mabry TJ, Tavizon SF. *Larrea*. 2a. ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México; 1981:305-307.
44. Hurtado L, Hernández R, Hernández F. et. al. Fungi-toxic compounds in the *Larrea* resin. En: Campos LE, Mabry TJ, Tavizon SF. *Larrea*. 2a. ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México; 1981:327-329.
45. Bellot-JI, Palmero-M, Alcoriza-N, et al. Concomitant treatment with a 5-lipoxygenase inhibitor improves the anti-inflammatory effect of the inhibition of nitric oxide synthase during the early phase of entotoxin-induced uveitis in the rabbit. *Ophthalmic-Res*. 1997; 29: 227-236.
46. Mirzoeva-Ok and Calder-PC. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins-Leucot-Essent-Fatty-Acids* 1996; 55: 441-449.
47. Argueta A, Cano L, Rodarte ME. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Tomo II. INI 1994: 669-670.
48. Aguilar A, Camacho JR, Chino S, y col. Herbario medicinal. Información etnobotánica. Ed. IMSS; México; 1994:217.
49. Segura LJ, Calzado FC. Possible amebicidal activity of *Larrea*. En: Campos LE, Mabry TJ, Tavizon SF. *Larrea*. 2a. ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: México; 1981:317-319.
50. Smith AY, Feddersen RM, Gardner K, et. al. Cystic renal cell carcinoma and acquired renal cystic disease associated with consumption of chaparral tea: a case report. *Am J Urol* 1994; 2089-2091.

51. Granados H, Cárdenas R. Cálculos biliares en el jámster dorado. XXXVII. Acción preventiva de "gobernadora" (*Larrea tridentata*) en la coleditiasis pigmentaria producida por la vitamina A. *Gastroenterology México* 1994; 59: 31-35.
52. Sheikh-Nm, Philen-RM, Love-LA. Chaparral-associated hepatotoxicity. *Arch-Intern-Med.* 1997; 157: 913-919.
53. Luna A. *Mil Plantas Medicinales*. Editores Mexicanos Unidos México; 1985:5-7.
54. Metha PH, Taguchi Y, Kuzmarov IW. Enhanced intravenous urography in renal trauma with low-dose dopamine. *Urology* 1993; 41: 88-90.
55. Resnick MI, Persky L. Summary of the National Institutes of Arthritis, Diabetes, Digestive and Kikney Diseases conference on urolithiasis: state of the art and future research needs. *J Urol* 1995; 153: 4-9.

FIGURAS

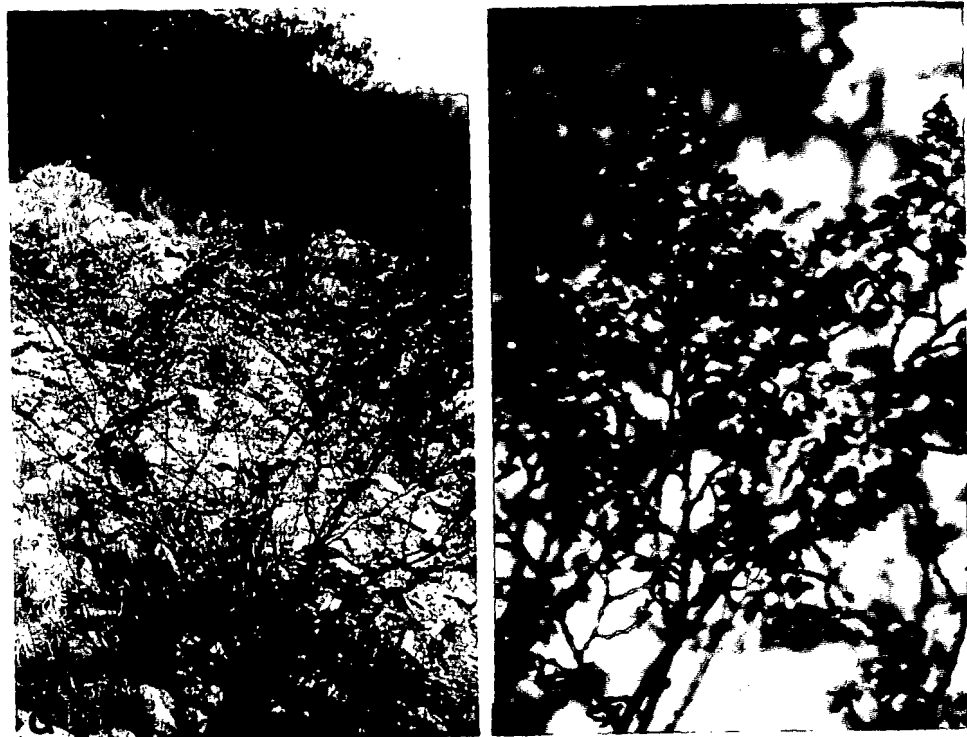


FIGURA 1. Imagenés de *Larrea tridentata*.
a) imagen del arbusto, b) acercamiento de la misma.

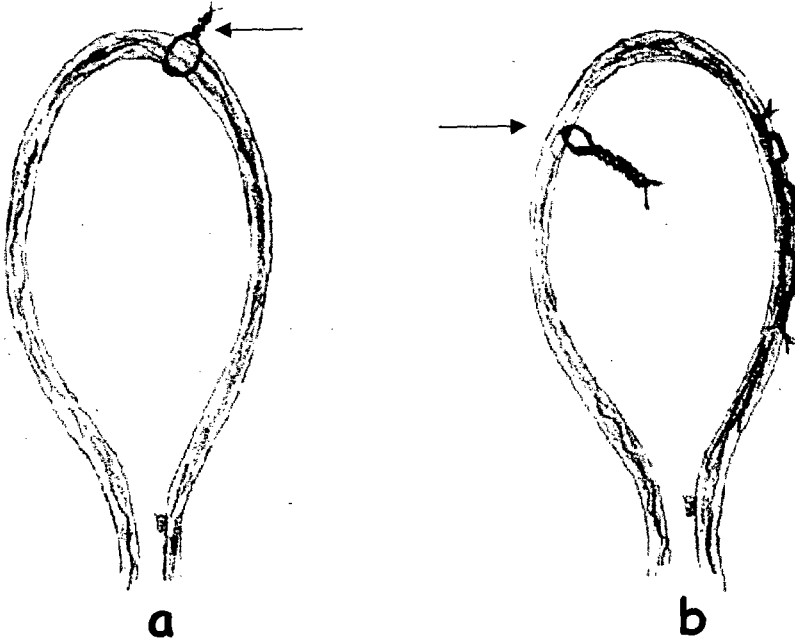


FIGURA 2. Técnica para el implante de las suturas en vejiga. a) un nudo atravesado la pared vesical; b) sutura intravesical.

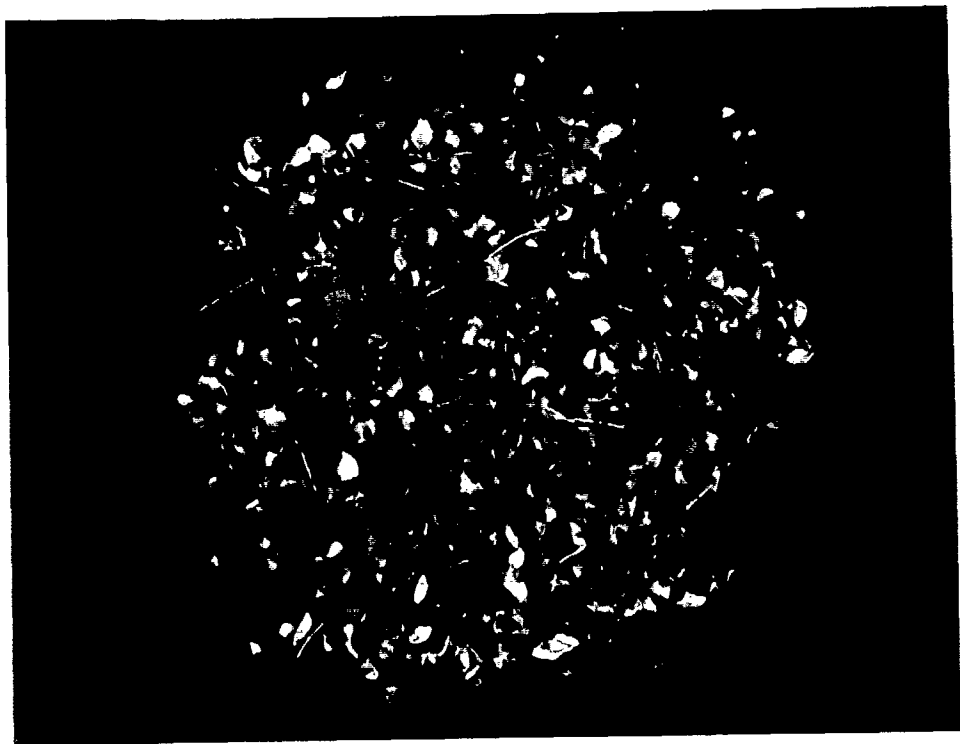


FIGURA 3. Ejemplar botánico no íntegro de *Larrea tridentata*, con el número de registro del herbario del IMSS 11317.

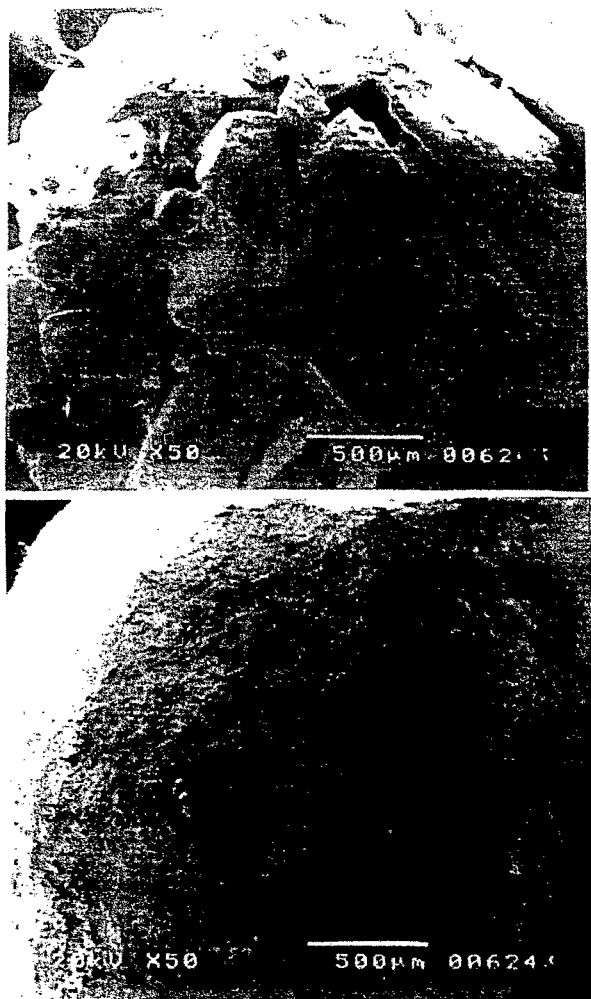


FIGURA 4. Imágenes de los litos en microscopía electrónica de barrido. a) fosfato de calcio, b) fosfato de magnesio.

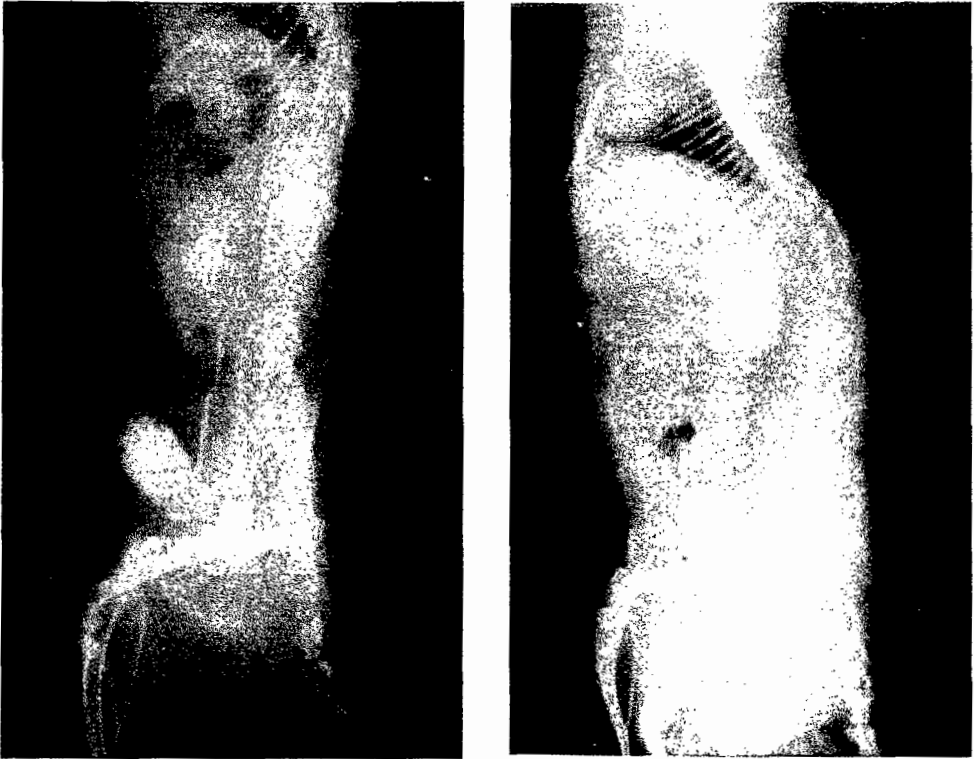


FIGURA 5. Urograma Excretor: Imágen izquierda positiva a litos. Notese el contorno vesical irregular con heterogeneidad del medio de contraste. Imágen derecha negativa. Notese contorno vesical uniforme con contenido de la densidad homogénea.

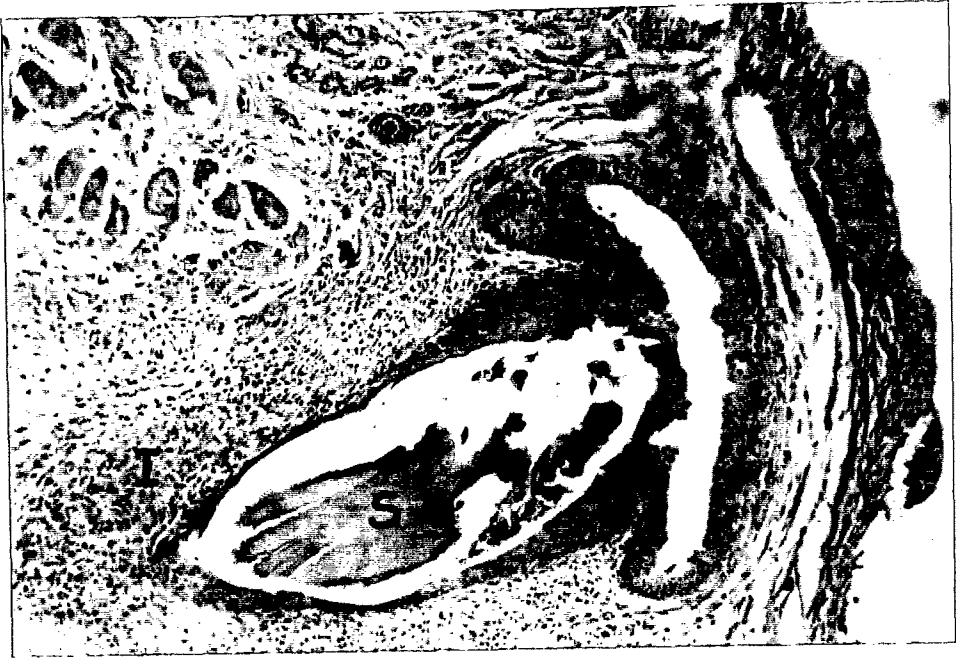
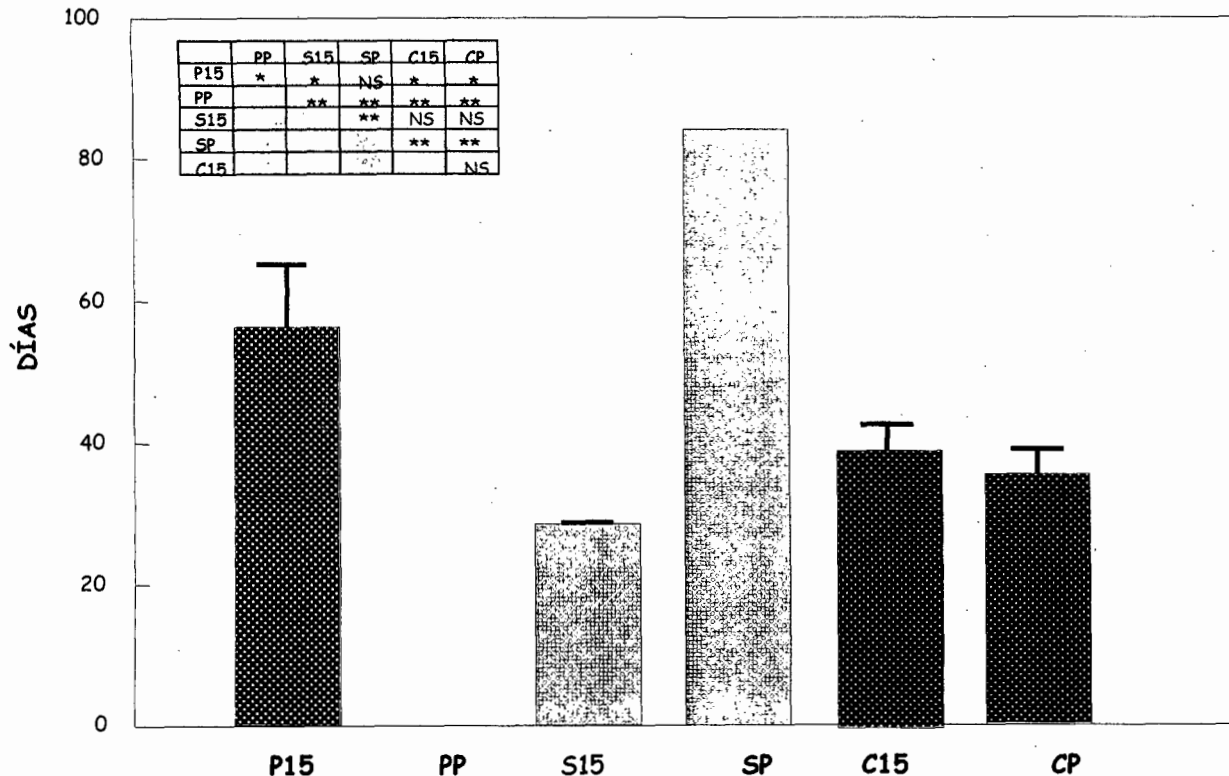


FIGURA 6. Micrografía que muestra vejiga a la que se aplicó asa de catgut crómico. Se aprecia restos de sutura (S), rodeados por epitelio transicional. Lámina propia y tejido muscular con reacción inflamatoria alrededor de la sutura (I). La luz de la vejiga ha quedado aislado del material extraño (HE, 40X).

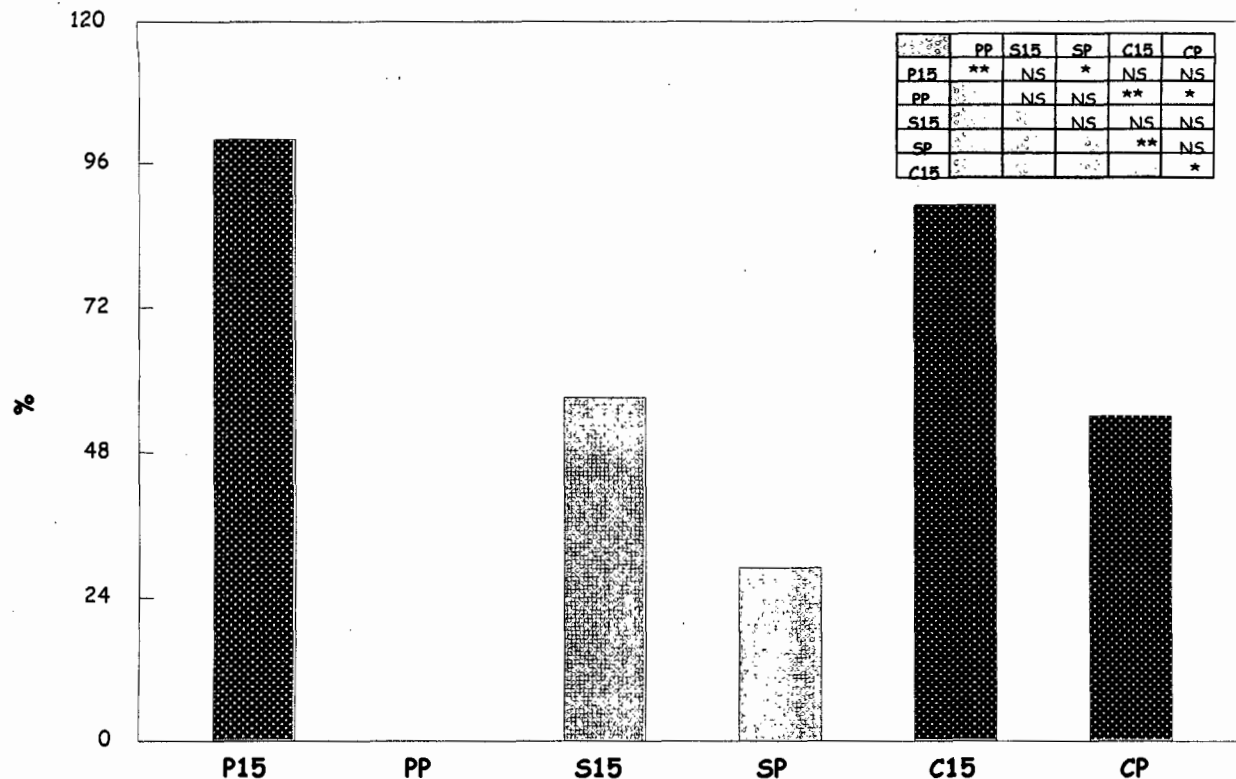
GRÁFICAS

TIEMPO PROMEDIO PARA EL DIAGNÓSTICO POSITIVO A LITIASIS



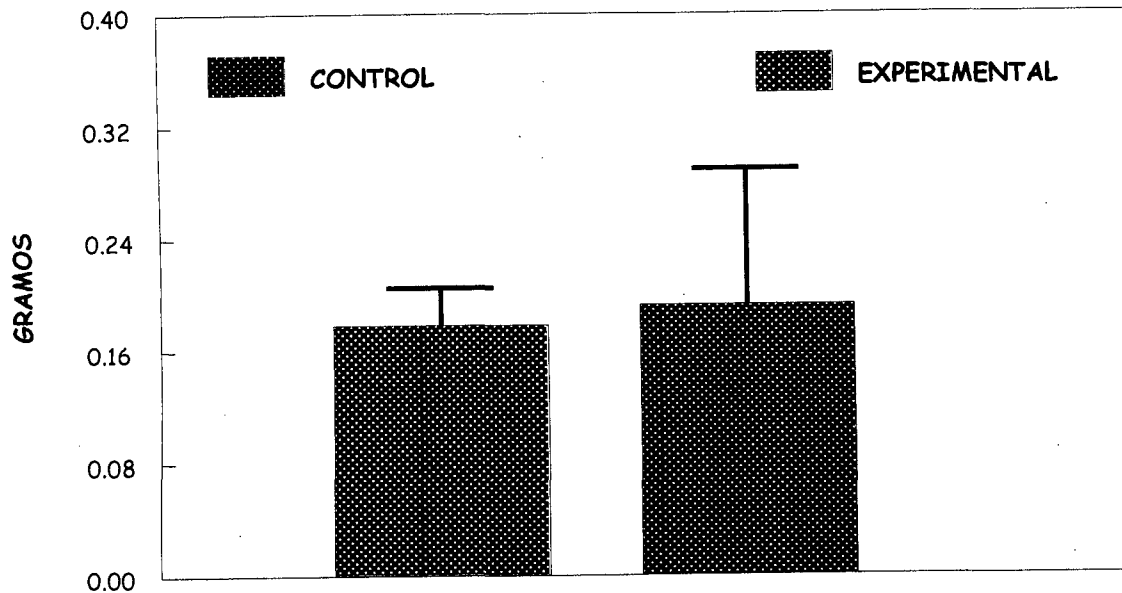
Gráfica 1. Tiempo promedio en días para el diagnóstico positivo de litiasis con los tres materiales de sutura y las dos técnicas quirúrgicas. El recuadro indica (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$) promedio \pm ESM.

PORCENTAJE DE RATAS POSITIVAS A UROLITIASIS



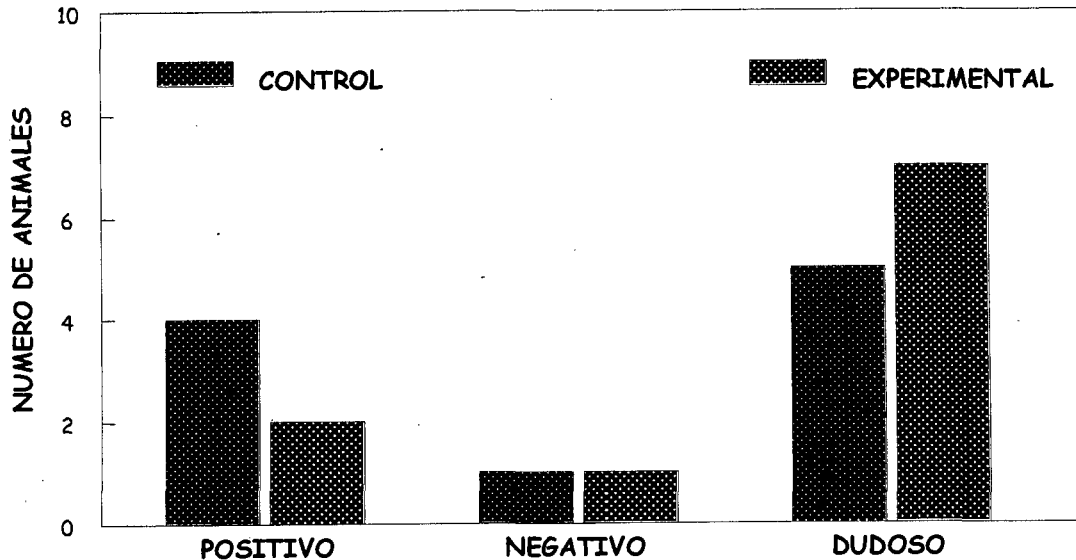
Gráfica 2. Porcentaje de ratas positivas a urolitiasis, de acuerdo con la técnica y material de sutura utilizado. El recuadro indica (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$) promedio \pm ESM.

PESO EN GRAMOS DE UROLITOS



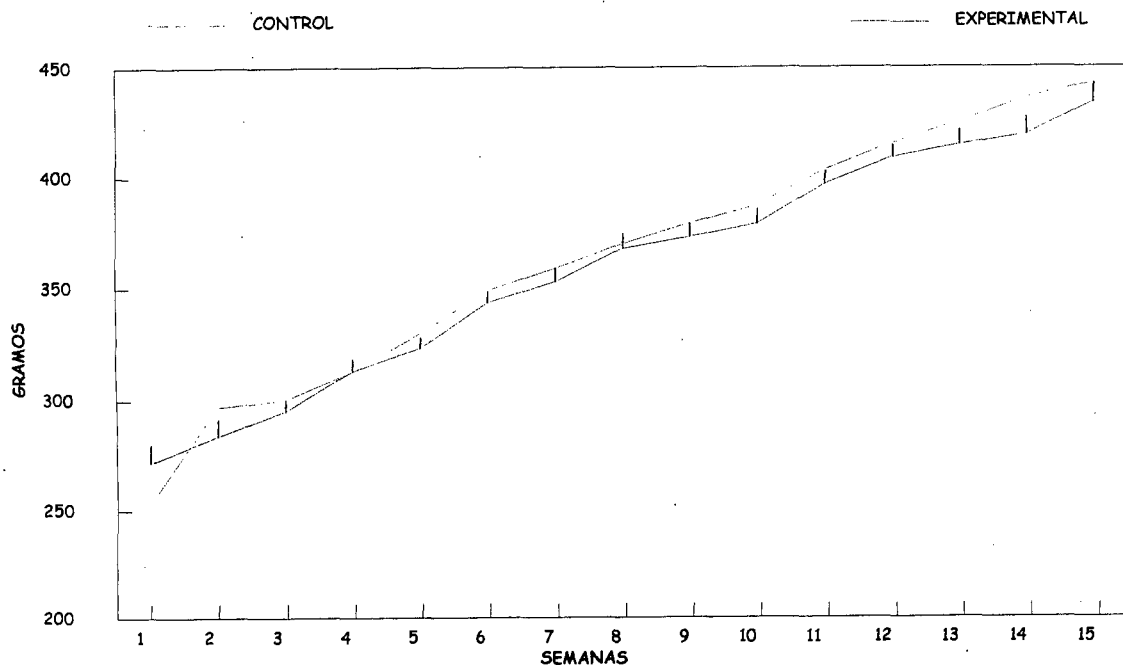
Gráfica 3. Peso de los cálculos en el grupo control (sin tratamiento), y experimental (con tratamiento). Los valores son promedio \pm DSM. No se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

DIAGNÓSTICO RADIGRÁFICO A LOS 45 DÍAS



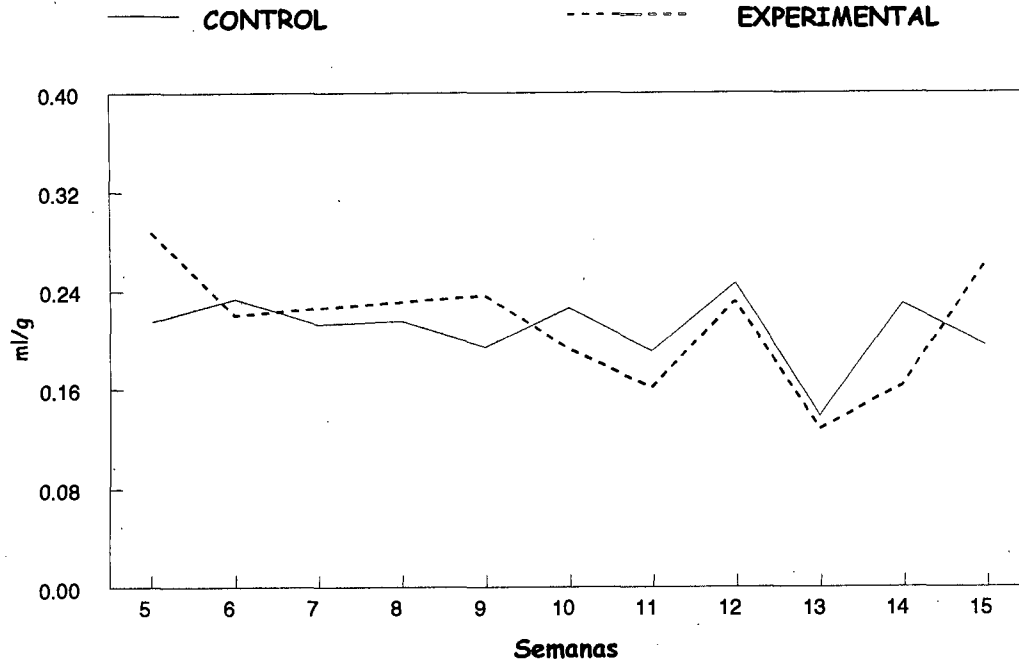
Gráfica 4. Número de ratas con diagnóstico positivo, negativo y dudoso para urolitiasis intravesical según urograma excretor a los 45 días posquirúrgicos, tanto para el grupo control (sin tratamiento) y experimental (con tratamiento). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

PESOS CORPORALES DE LAS RATAS EN EL TIEMPO



Gráfica 5 . Curva de crecimiento de las ratas del grupo control (sin tratamiento) y experimental (con tratamiento). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ningún momento. Promedio \pm ESM.

CONSUMO DE AGUA EN RELACIÓN AL PESO



Gráfica 6. Comparación de la relación de consumo de agua entre el peso corporal entre grupos.

CUADROS

CUADRO 1
DISTRIBUCIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES DE *Larrea*.

	<i>tridentata</i>			<i>divaricata</i>		<i>cuneifolia</i>	<i>nítida</i>	<i>ameghinói</i>
	2n	4n	6n	2n	4n		2n	2n
° <i>Hidrocarburos Monoterpenos</i>								
→ Alfa - pineno	***	***	***	***	***		***	***
→ Beta - pineno		***		*	*		*	*
→ Mirceño					*		*	*
→ Alfa - fencheno		***		*				*
→ Beta - ocimeno		***		*	*		*	
→ Δ^3 careno				*	*		*	
→ Limoneno	***	***	***	***	***		**	**
→ Camfeno	**	**	**					
° <i>Monoterpenos oxigenados</i>								
→ Alfa - terpineol							*	
→ 1,8 - cineol					*		*	
→ Borneol	***	***	***	***	***		***	***
→ Camfor	***	***	***	***	***		***	***
→ Bornil acetato	**	**	**					
→ Linalool	*	*	*	*				
→ Cis- linalool óxido				*				
→ Trans - linalool óxido cis - 2,6,6 - trimetil - 2 - vinil- tetrahidropiranol - (5)				*				
→ Trans - 2,6,6, - trimetil 2 - vinil - tetrahidropiranol - (5)				*				
° <i>Sesquiterpenos</i>								
→ Edulano	*	*	*	*	*		*	
→ Calameneno	*	*	*					
→ Alfa - curcumeno	*	*	*		*			
→ Beta - santaleno	*	*	*				*	
→ Cupareno	*	*	*					
→ Alfa - bergamoteno	*	*	*					
→ Guaiazuleno				*			*	*
→ Alfa muuroleno							*	
→ Copaeno		*		*	*		*	*
→ 2 - rossaleno		*		*			*	*
→ Gamma - eudesmol	***	***	***	***	***		***	***
→ Beta - eudesmol		**					*	
→ Alfa - agarofuran	**	**	**	**	**		**	**
→ Fanesol	*	*	*	*			*	*
° <i>Aromáticos</i>								
→ n- hexil benzoato				*				
→ Acetofenona	*	*	*		*		*	*
→ etil hidrocinnamato		*			*			
→ Benzaldehido	**	**	**	**	**		**	**
→ P - cimeno		**		**	**		**	**
→ Benzil acetato	*	*	*	*	*		*	*
→ Q - metil anisato	*	*	*					
→ Benzil butanato	*	*	*					
→ Etil benzoato	**	**	**	**	**		**	**
→ 1 - metil naftaleno	*	*	*					
→ 1,2 - dihidro - 1,5,8 trimetilnaftaleno	*	*	*					
→ Etil palmitato	*	*	*	*				
→ Etil pentadecanoato	*	*	*	*				
→ 3- hexenil acetato	*	*	*	*				
→ 3- hexanil benzoato					*		*	
° <i>Misceláneos volátiles</i>								
→ 2- heptanona				*	*		*	
→ 2 - nonanona	*	*	*	*	*		*	
→ 2 - undecanona	***	***	***	***	***		***	***
→ 2 - dodecanona	*	*	*				*	
→ 2 - tridecanona	***	***	***	***	***		***	***
→ 2 - tetradecanona			*		*			*
→ 2 - pentadecanona	*	*					*	*
→ 1 - hexano - 3 - ona	***	***	***	***	***		***	***
→ 1 - heptano - 3 - ona	*	*	*	*	*		*	*
→ 1 - octano - 3 - ona	**	**	**	**	**		**	**
→ N tridecano	**	**	**	**	**		**	**
→ N tetradecano	*	*	*	*			*	*
→ N tricosano							*	*
→ 3 - metilbutanol	*	*	*	*	*			*
→ 3 - hexanona				*				
→ Hexanol	*	*	*		*			*
→ 3,4 - dimetiltetrahirofuran					*			
→ Ácido isobutirico				*				
→ 2 - ácido metilbutanoico				*				

La relación de las cantidades de cada uno de los compuestos en el aceite son indicados como:

*: < 1% **: 1-3% ***: > 3%

CUADRO 2
DISTRIBUCIÓN DE AGLICONES FLAVONOIDES DE *Larrea*.

	<i>L.</i> <i>tridentata</i>	<i>L. divaricata</i> Argentina	<i>L. divaricata</i> Perú	<i>L. cuneifolia</i>	<i>a L. nitida</i>	<i>bL.</i> <i>ameghinoi</i>
→ Gosipetin 3,7,3-trimetil eter	✓	X	X	X	X	X
→ Gosipetin 3,7-dimetil eter	✓	X	✓	X	X	X
→ Herbacetin 3,7-dimetil eter	✓	X	✓	X	X	X
→ Quercetin 3,7,3',4'-tetrametil eter	✓	✓	X	✓	✓	✓
→ Quercetin 3,7,3'-trimetil eter	✓	✓	X	✓	✓	X
→ Quercetin 7,3',4'-trimetil eter	✓	✓	X	✓	✓	X
→ Quercetin 3,7dimetil eter	✓	✓	X	✓	✓	✓
→ Quercetin 3,3'-dimetil eter	✓	✓	✓	✓	✓	✓
→ Quercetin 7,3'-dimetil eter	✓	✓	X	✓	✓	X
→ Quercetin 3'-metil eter	✓	✓	✓	✓	✓	X
→ Quercetin	✓	✓	✓	X	✓	X
→ Campferol 3,7-dimetil eter	✓	✓	X	✓	✓	X
→ Campferol 3,4'-dimetil eter	✓	X	✓	X	X	X
→ Campferol 3-metil eter	✓	✓	✓	✓	X	X
→ Campferol 7-metil eter	✓	✓	✓	X	✓	X
→ Campferol	✓	✓	✓	X	X	X
→ Luteolin 7,3'-dimetil eter	✓	✓	X	X	✓	✓
→ Luteolin 3'-metil eter	✓	✓	X	X	✓	✓
→ Apigenin 7-metil eter	✓	✓	X	✓	✓	X
→ Apigenin	✓	✓	X	✓	X	X
→ Dihidromiricetin 3',5'-dimetil eter	✓	✓	✓	X	✓	X

✓ = Presente; X = no detectados

a *L. nitida* tiene 5 puntos desconocidos además de los indicados

b Los compuestos son determinados por cromatografía de papel; *L. ameghinoi* contiene 17 compuestos desconocidos a demás de los indicados.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

CUADRO 3
DATOS GENERALES Y RESULTADOS PARA CADA GRUPO
EN EL DISEÑO DEL MODELO.

Grupo	n	Material de sutura	Técnica quirúrgica	Ratas positivas a cálculos por grupo (%)	Días promedio a diagnóstico positivo (promedio ± ESM)	Peso promedio de los cálculos en g (promedio ± ESM)
P15	7	Poliéster	15 nudos internos	100	56.43±8.81	0.135±0.029
PW	7	Poliéster	Un nudo atravesando la pared	0	X	X
S15	7	Seda	15 nudos internos	57	28.50±0.25	0.330±0.130
SW	7	Seda	Un nudo atravesando la pared	29	84.00±0.00	0.055±0.001
C15	18	Catgut crómico	15 nudos internos	89	39.19±3.22	0.390±0.108
CW	13	Catgut crómico	Un nudo atravesando la pared	54	35.43±3.56	0.120±0.041

CUADRO 4
UROCULTIVO BASAL /48 h

	<u>POSITIVO /TOTAL</u>
° GRUPO EXPERIMENTAL	
→ n	10
→ Media Aritmética	0/10
→ DS	
° GRUPO CONTROL	
→ n	10
→ Media Aritmética	0/10
→ DS	
t-Student	X

UROCULTIVO FINAL /24 h

	<u>CEPA</u>
	<u>Staphilococcus albus</u>
	<u>POSITIVO /TOTAL</u>
° GRUPO EXPERIMENTAL	
→ n	10
→ Media Aritmética	0/10
→ DS	
° GRUPO CONTROL	
→ n	10
→ Media Aritmética	0/10
→ DS	
t-Student	X

DS: Desviación Estandar

n: Número de Muestra

CUADRO 5
EXAMEN GENERAL DE ORINA BASAL.

	VARIABLES							
	pH	Albúmina	Glucosa	Cetona	Hb	Leucocitos	Eritrocitos	Cilindros
° GRUPO EXPERIMENTAL								
→ n	10	10	10	10	10	10	10	10
→ Media Aritmética	6.8	1.2	0.0	0.6	1.7	1.6	4.1	0.0
→ DS	0.3	0.9	0.0	0.7	1.4	1.6	5.2	0.0
° GRUPO CONTROL								
→ n	9	9	9	9	9	10	10	10
→ Media Aritmética	6.6	1.3	0.0	0.2	1.4	1.2	0.9	0.0
→ DS	0.5	0.9	0.0	0.7	1.4	0.4	1.1	0.0
† - Student	0.391	0.7488	X	0.2447	0.7005	0.45603	0.0842	X

DS: Desviación Estándar

n: Número de Muestra

CUADRO 6
EXAMEN GENERAL DE ORINA FINAL.

	VARIABLES							
	pH	Albúmina	Glucosa	Cetona	HB	Leucocitos	Eritrocitos	Cilindros
° GRUPO EXPERIMENTAL								
→ n	9	9	9	9	9	4	2	4
→ Media Aritmética	7.3	4.1	0.0	0.3	4.8	3.0	6.0	0.0
→ DS	0.7	0.9	0.0	1.0	0.4	1.8	4.2	0.0
° GRUPO CONTROL								
→ n	8	8	8	7	8	4	4	4
→ Media Aritmética	7.2	3.5	0.0	0.0	4.0	5.5	18.3	0.0
→ DS	0.7	1.1	0.0	0.0	1.2	1.9	33.2	0.0
t - Student	0.7965	0.2313	X	0.3466	0.1174	0.1078	0.51704	X

DS: Desviación Estándar n: Número de Muestra

Nota: En el grupo experimental se encontraron en cantidades regulares cristales de Ac. Úrico, mientras que en el grupo control la presencia de éstos fué escasa.

CUADRO 7 HEMATOLOGÍA

	VARIABLES									
	Hb	Hto	CMHG	Leucocitos	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos	Segmentados	Bandas
° GRUPO EXPERIMENTAL										
→ n	7	7	7	5	7	7	7	7	6	5
→ Media Aritmética	17.2	53.6	32	2.88	57.9	3.6	1.7	8.6	31.7	1.6
→ DS	1.0	2.6	0	985.9	14.6	1.6	2.1	22.7	11.2	1.7
° GRUPO CONTROL										
→ n	8	8	8	5	8	8	8	8	8	2
→ Media Aritmética	22.8	50.6	32.4	3.08	57	4.5	1.8	3	33.5	1
→ DS	12.1	14.4	0.5	1,35.4	12.3	6.1	2.0	8.5	17.8	0
† - Student	0.2773	0.5811	0.0796	0.7624	0.9049	0.6902	0.9739	0.5578	0.818	0.4676

DS: Desviación Estándar

n: Número de Muestra

CUADRO 8 QUÍMICA SANGUÍNEA

	VARIABLES		
	<i>Glucosa</i>	<i>Urea</i>	<i>Creatinina</i>
° GRUPO EXPERIMENTAL			
→ n	10	10	10
→ Media Aritmética	112	61.1	0.7
→ DS	68.3	6.3	0.5
° GRUPO CONTROL			
→ n	10	10	10
→ Media Aritmética	114.5	62.2	0.6
→ DS	96.3	8.4	0.2
t-Student	0.9474	0.7433	0.5357

DS: Desviación Estandar

n: Número de Muestra



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

COMITÉ DE TITULACIÓN

**C. MARIA LUISA RAMOS IBARRA
PRESENTE.**

Manifiestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de TESIS con el título "**DISEÑO E IMPLEMENTACION DE UN NUEVO MODELO DE UROLITIASIS EN RATA PARA VALORAR LA EFECTIVIDAD DEL COCIMIENTO DE *Larrea tridentata* EN LA REDUCCION DE LA FORMACION DE CALCULOS VESICALES**", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicho trabajo al **M. EN C. ELISEO PORTILLA DE BUEN**, y como asesor al **M.V.Z. ALBERTO RAMOS MORA**.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL., ENERO 12 DE 1999


DR. ARTURO OROZCO BAROCIO
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION




M. EN C. MARTHA GEORGINA OROZCO MEDINA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACION

c.c.p. **M.C. ELISEO PORTILLA DE BUEN**.- Director del Trabajo.
c.c.p. **M.V.Z. ALBERTO RAMOS MORA**.- Asesor del Trabajo.
c.c.p. Expediente del alumno

AOB/MGOM/bacg*

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

Dr. ALFONSO E. ISLAS RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

PRESENTE:

Por este medio nos permitimos informar a Usted que, habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó la pasante de la Licenciatura en Biología: María Luisa Ramos Ibarra, código 087565939, con el título: DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN NUEVO MODELO DE UROLITIASIS EN RATA PARA VALORAR LA EFECTIVIDAD DEL COCIMIENTO DE *Larrea tridentata* EN LA REDUCCIÓN DE LA FORMACIÓN DE CÁLCULOS VESICALES., consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y en su caso, programación de fecha de exámen de tesis y respectivos.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 07 de Septiembre de 1998

ATENTAMENTE

EL DIRECTOR DE TESIS

M. en C. ELISEO PORTILLA DE BUEN

ASESOR

MVZ Alberto Ramos Mora

SINODALES

Dr. en C. Galina Zaitzeva Petrovna

Dr. en C. Arturo Orozco Barocio

M. en C. Eduardo Vázquez Valls



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

México, D.F. a 27 de noviembre de 1998.

Dr. Eliseo Portilla de Buen
Jefe de la División de Investigación Quirúrgica.
Centro de Investigación Biomédica de Occidente
Instituto Mexicano del Seguro Social
Presente.

Comunico a usted que las muestras de plantas, colectadas en el Mercado Corona de la ciudad de Guadalajara, Jalisco por la Pasante de Biología María Luisa Ramos Ibarra, fueron trabajadas por el personal del Herbario IMSSM y se determinó que corresponden a la especie *Larrea tridentata* (DC.) Coville.

Por otro lado, se realizó el correspondiente aval de herbario, quedando el ejemplar depositado en el acervo del Herbario IMSSM, con el número de registro 11,317.

Sin otro particular, me despido de usted cordialmente.

Atentamente

M. en C. Abigail Aguilar Contreras
Jefe del Herbario IMSSM.

