



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE FARMACIA



**“Efecto anticonceptivo del extracto acuoso de *Psittacanthus calyculatus*
(Injerto) en ratones hembra CD.1.”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN FARMACIA
P R E S E N T A
ALAIN HASSAN ALTAMIRANO ESPINOZA

ASESORES: M. en C. GEORGINA ALMAGUER VARGAS
M. en C. JOSÉ RAMÓN MONTEJANO RODRÍGUEZ

PACHUCA DE SOTO, HGO.

JUNIO 2009.

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a Dios, por haberme permitido vivir una de las experiencias más importantes en mi vida: ¡Esto es la vida misma con todos altos y bajos!

A mi familia, mis padres, muy en especial a mi madre Eva Espinoza Martinez y a mi hermana Laura Altamirano Espinoza, por creer en mi desde el principio y apoyarme en todo momento aunque significara el sacrificio de sus propios sueños.

A mi esposa Karla Mejía Baños, por todo su amor, comprensión, apoyo y compañía.

A mis asesores M. en C. Georgina Almaguer Vargas y M. en C. José Ramón Montejano Rodríguez, por haberme apoyado y sufrido conmigo en este camino de la tesis.

A mis maestros, que además de enseñarme a ser un profesional, me dieron la oportunidad de realizar mis aspiraciones.

Al jurado de esta tesis por derramar sus conocimientos y opiniones sobre este trabajo.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por darme tantas cosas que hoy por hoy son lo más importante de mi vida.

A mis amigos y compañeros por tantos momentos inolvidables.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I.-Introducción	1
II.- Antecedentes del uso anticonceptivos	2
2.1.- Antecedentes del uso de anticonceptivos a nivel internacional	2
2.2.- Antecedentes del uso de anticonceptivos a nivel nacional	5
2.3.- Antecedentes del uso de anticonceptivos a nivel estatal	6
2.4.- Fisiología de la reproducción	7
2.4.1.- Anticoncepción	9
2.4.1.1.- Anticonceptivos femeninos	10
2.4.1.2.-Anticonceptivos masculinos	14
2.4.2.- Desventajas de los anticonceptivos mas comúnmente usados	15
2.5.0.- Uso de plantas medicinales	16
2.5.1.- Plantas con efecto anticonceptivo	17
2.5.2.- Descripción de <i>P. Calyculatus</i>	25
2.5.2.1.- Descripción botánica	25
2.5.2.2.- Distribución geográfica	26
2.5.2.3.- Estudios de tipo etnobotánico	26
2.5.2.4.- Estudios fitoquímicos	27
2.5.2.5.- Estudios farmacológicos	27
III.-Hipótesis	29
IV.- Justificación	30
V.- Objetivos	31
5.1.- Objetivos general	31
5.2.- Objetivos específicos	31
VI.- Materiales y métodos.	32
6.1.- Metodología. (Para la identificación botánica y fotoquímica de <i>P. calyculatus</i>)	32
6.1.1.-Material botánico.	32

6.1.2.- Fitoquímica preliminar	32
	Pág.
6.1.2.1-Preparación de los extractos.	32
6.1.2.2- Elaboración de los reactivos	33
6.1.2.3 Pruebas fitoquímicas	34
6.1.2.3.1.-Ensayo de resinas	36
6.1.2.3.2.-Ensayo de fenoles y taninos	36
6.1.2.3.3.-Ensayo de espuma	37
6.1.2.3.4.-Ensayo de mucílagos	37
6.1.2.3.5.- Identificación de poliuronidos	37
6.2.- Implementación del diseño metodológico para la evaluación del efecto anticonceptivo de <i>p. calyculatus</i>	38
6.2.1.- Manejo del material biológico	38
6.2.2.-Implementación del modelo para determinar el efecto anticonceptivo (apareamiento)	38
6.2.3.- Determinación de la dosis del extracto para administración y tratamiento	39
6.2.4.- Extracción del útero, conteo de las implantaciones y crías	40
6.2.5.- Análisis estadístico para comprobar el efecto anticonceptivo de <i>P. calyculatus</i>	40
VII.- Resultados	41
7.1 Fitoquímica	41
7.2 Diseño experimental: Administración del tratamiento y fase de apareamiento	43
7.3 Conteo de número de fetos y conteo de implantaciones en el útero de los ratones hembra de lotes tratamiento y control y análisis de los hallazgos en el paquete Sigma Stat.	44
VIII.-Discusión	48
IX.- Conclusión	52
X.- Recomendaciones	53
XI.- Bibliografía	54

Índice de tablas

	Página
Tabla I. Porcentaje de fallo de tratamientos para la planificación familiar	4
Tabla II. <i>Psittacanthus. Calyculatus</i> . Hábitat y sus hospederos	26
Tabla III. Resultados del tamizaje fitoquímico preliminar	41
Tabla IV.- administración de la decocción al grupo tratamiento y vehículo al grupo control	43
Tabla V. Número se productos <i>in utero</i> , en el grupo experimental y control	44
Tabla VI. Número de implantaciones <i>in utero</i> , en el grupo experimental y control.	45

Índice de figuras

Figura 1 Preferencias anticonceptivas de México.	6
Figura 2. <i>P. calyculatus</i> que se encuentra parasitando un árbol de cítricos.	25
Figura 3 Conteo de crías en lote control y tratamiento.	46
Figura 4. Promedio de número de implantaciones en lote control y tratamiento	47

Resumen:

La cobertura en la salud reproductiva es un problema a nivel global que afecta de manera importante a los países que están en vías de desarrollo, México como parte de las economías emergentes muestra un contraste en la satisfacción de la necesidad de anticonceptivos en su población, dado que existen poblaciones con alto grado de marginación, poca penetración de los Servicios de Salud y de los programas de planificación familiar vigentes. El estado de Hidalgo no es ajeno a la situación nacional, como tampoco lo es a la importante cultura en el uso de plantas medicinales, los habitantes han encontrado a base de prueba y error el uso de *Psittacanthus calyculatus* (injerto) con fines anticonceptivos, la información de éste uso ha sido recabada por Villavicencio y colaboradores. Con el objetivo de evaluar el efecto que respalde el uso empírico de esta planta como un medio de control reproductivo, se realizó un estudio experimental, en el que se incluyeron dos grupos de ratones hembra de la cepa CD1, de 11 individuos cada uno, a los que se les administró vehículo y extracto acuoso de *P. calyculatus* respectivamente, durante un periodo de dos estros, posterior a lo cual se llevó a cabo el apareamiento. El día 18 de gestación se procedió al sacrificio y cuantificación del número de fetos y nódulos de cada lote y se analizaron estos datos obtenidos, en el paquete Sigma Stat. La conclusión del estudio fue que no se obtuvo el efecto anticonceptivo, bajo el diseño y las condiciones del presente trabajo; sin embargo, se obtuvo como resultado el aumento de la supervivencia de las crías en el grupo tratado.

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica del Área Académica de Farmacia en el Instituto de Ciencias de la Salud de la UAEH.

I.-INTRODUCCIÓN

La salud reproductiva es un problema mundial que afecta principalmente a países en vías de desarrollo. La falta de recursos económicos, la cultura, idiosincrasia y marginación han ocasionado que en especial la planificación familiar no esté al alcance de todas las personas. (1,2) Se estima que del total de la población mundial el 60% de las mujeres en edad reproductiva casadas o unidas regulan su fertilidad usando algún método anticonceptivo, lo cual se correlaciona con una tasa global de fecundidad de 2.7 hijos por cada mujer (3). El porcentaje de habitantes mexicanas en edad fértil, que se encuentran unidas o casadas, y que usan algún método anticonceptivo representa el 70.9% de la población, sin embargo el número de mujeres que no usan métodos anticonceptivos, no obstante, su deseo expreso de regular su fecundidad es todavía muy elevada. En el estado de Hidalgo esta cifra se estima es un 13.6% del total de la población hidalguense. (Encuesta Nacional de Planificación Familiar 2006) (4)

Existen varios métodos anticonceptivos: Los hay permanentes, temporales, reversibles, irreversibles, de corta duración, y de efectos prolongados tanto para hombres como para mujeres, su administración puede ser oral, parenterales de acción local o sistémica, invasivos y de barrera; estos métodos la gran mayoría de las veces son inaccesibles para las comunidades apartadas, tanto por su asequibilidad, stock, y precio, su uso está subestimado gracias a las costumbres y creencias que no incluyen el uso de la medicina alopática. (3)

En Hidalgo existe una gran cantidad de habitantes de zonas rurales, que en su mayoría son de etnia indígena, con alto grado de marginación y pobreza, que habitan en comunidades de difícil acceso (por ejemplo las comunidades de la región Tepehua, Yahualica etc.) lo cual acentúa la baja penetración de servicios de salud y medios de control de la natalidad; a causa de esta situación, la población ha buscado una alternativa anticonceptiva en las plantas medicinales; coincidiendo muchas de ellas con el uso de una planta en común: *Psittacanthus calyculatus* (injerto). Con el objetivo de aportar datos relevantes que respalden el uso empírico de esta planta como un medio de control reproductivo, se realizó un estudio experimental, en el cual se evaluó el efecto anticonceptivo, del extracto acuoso de *Psittacanthus calyculatus* en un modelo *in vivo* con ratones hembras de la cepa CD1 (5).

II.-ANTECEDENTES DEL USO DE ANTICONCEPTIVOS

En los tratados de la historia antigua se mencionan métodos para controlar la fecundidad de las poblaciones ya sea, para detener su crecimiento descontrolado o bien, para lograr su aumento con fines totalmente distintos. ⁽⁶⁾

Aristóteles consideraba que las civilizaciones que no controlaban su natalidad estaban condenadas a la pobreza. Todas las civilizaciones antiguas usaron diversos métodos anticonceptivos para controlar la fertilidad de sus mujeres, la mención más remota que se conoce del empleo de anticonceptivos, se lee en un papiro egipcio, fechado entre los años 1900-1100 antes de Cristo, en donde se menciona, además del uso de la miel y el excremento de cocodrilo como anticonceptivos, *Acacia catechu*. (cola de acacia), con el mismo efecto. Asimismo también se usaban tapones vaginales impregnados con sustancias ácidas con fines espermaticidas. En Grecia, se usaba el aceite de cedro, la pomada a partir de aceite de oliva y el incienso para endurecer las paredes del útero e impedir un embarazo. Plineo manifestó en su tratado "Historia Natural", algunos otros métodos anticonceptivos. El médico Sorano de Efeso, describe en su "Tratado de Ginecología" un compuesto elaborado a base de aceite rancio de oliva, miel y aceite de cedro como contraceptivo; y también declaraba que resultaba muy eficaz la introducción de una bola de lana de borrego dentro del útero, previamente empapada de vino y otras sustancias de consistencia grumosa para tales fines. Otro método consistía en crear una costra sobre el pene que mataba el espermatozoide e impedía su salida y penetración hacia la vagina. En la época romana las clases sociales más bajas usaban amuletos, por ejemplo, la matriz de mula, cerumen de mula, arañas envueltas en piel de siervo, entre otros objetos para evitar el embarazo. ⁽⁷⁻¹⁰⁾

2.1 ANTECEDENTES DEL USO DE ANTICONCEPTIVOS A NIVEL INTERNACIONAL.

En los diferentes países del mundo es fácil apreciar que existe una marcada diferencia entre cultura, religión, situación social, económica, de salud, demográfica, etc. Esto da como resultado diferentes necesidades anticonceptivas, en África subsahariana, se evidenció que un 21% de la población femenina unida o casada usa anticonceptivos, siendo el

anticonceptivo más usado los hormonales inyectados, y en contraste, el condón, es el método menos popular, otras regiones pobres del continente africano siguen esta misma tendencia de uso. ⁽¹¹⁾

La salud reproductiva ha cosechado logros importantes en continentes como el asiático, en el que ha logrado disminuir la fecundidad un 24% en un lapso de 20 años, de entre varios países con elevados coeficientes de uso de anticonceptivos, llama la atención Tailandia dado que su fecundidad logró decrecer en un 50%, gracias al uso de anticonceptivos. En América Latina, el Dispositivo Intrauterino (DIU) muestra una tasa baja de uso con apenas un 6.6% de la población femenina, seguido por las tabletas o grageas anticonceptivas, con un 6% de uso, el anticonceptivo preferido es la esterilización quirúrgica por medio de la salpingectomía. Sin embargo, existe un rezago muy importante en el uso de anticonceptivos, esta cifra se estima en un 48% de mujeres que no regulan su fecundidad con algún método. En Europa, existe una marcada preferencia por los DIU con una prevalencia de 33%, y las tabletas anticonceptivas con un 30%. ^(12, 13)

El Departamento de Salud y Servicios Humanos, ha recabado dentro de sus bases de datos, información sobre la eficacia de los anticonceptivos más utilizados a lo largo y ancho del globo terráqueo, esta información se sintetiza en la tabla No.1, es fácil apreciar que el método más usado en el mundo son los anticonceptivos orales, también figura como uno de los métodos más eficaces, solo sobrepasado por el implante subcutáneo, los métodos quirúrgicos como la vasectomía, tiene muy poco margen de error, entre el uso típico y el uso adecuado esto debido a que se maneja directamente con supervisión médica durante y después del proceso, en otro caso los anticonceptivos hormonales inyectables se mantienen sin cambios entre ambos usos, esto los ha hecho muy populares en países con problemas servicios médicos, con alto grado de marginación, por ejemplo Zimbabwe, Kenya, Tanzania etc., el condón masculino y femenino, diafragmas, espermaticidas, método del ritmo, abstinencia, tienden a disminuir hasta un 25% su eficacia cuando se trata del uso típico, sin embargo con un uso adecuado, reflejan un riesgo de embarazo importante en comparación con los implantes, o incluso los anticonceptivos orales. ⁽¹⁴⁾

Porcentaje de mujeres que experimentó un embarazo no deseado en el primer año de uso.			
Método Anticonceptivo	Uso Adecuado	Uso típico	% de Mujeres que lo usan
Implante	0.05%	0.05%	1.3%
Medios quirúrgicos para hombres	0.10%	0.15%	10.1%
Anticonceptivos Orales	0.1%	5.0%	24.9%
Anticonceptivos Hormonales Inyectables.	0.3%	0.3%	2.7%
Medios quirúrgicos para mujeres	0.5%	0.5%	25.6%
Aparatos intrauterinos	0.6%	0.8%	0.7%
Condón Masculino	3.0%	14.0%	18.9%
Abstinencia.	4.0%	19.0%	2.9%
Diafragmas.	6.0%	20.0%	1.7%
Espermaticidas	6.0%	26.0%	1.3%
Abstinencia periódica	9.0% [§]	25.0%	2.2%

Tabla No. 1 Porcentaje de fallo de tratamientos para la planificación familiar.

El uso adecuado se entiende como; uso de los anticonceptivos siguiendo estrictamente las instrucciones de uso, siendo vigilado por personal médico, el uso típico; se refiere al uso descuidado de los métodos anticonceptivos. ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾

2.2. ANTECEDENTES DEL USO DE ANTICONCEPTIVOS A NIVEL NACIONAL.

La proporción de mujeres expuestas a un embarazo y que no hacen uso de algún método anticonceptivo, no obstante su deseo expreso de espaciar o limitar los nacimientos, se define como necesidad insatisfecha. ⁽¹⁸⁾ En México todavía es muy elevada la proporción de mujeres que se encuentran en esta situación, e inclusive para el año 1995 aproximadamente el 14% de mujeres se encontraban en estas condiciones. Un estudio comparativo del INEGI muestra el aumento del uso de anticonceptivos a lo largo de 4 décadas, estos datos identifican un aumento en el interés de la población por controlar su fecundidad ⁽¹⁹⁾.

El importante descenso de los niveles de fecundidad, es un hecho que parece consumado en México pero aún se aprecian diferencias territoriales al respecto, lo cual está condicionado, en última instancia por el desarrollo regional imperante y la repercusión de ello en la situación demográfica local, en el norte de México se estima una prevalencia anticonceptiva del 74%, y en los Estados del centro como Puebla, Hidalgo, Distrito Federal. Se calcula una prevalencia en 63% para estas regiones en su conjunto. Chiapas con una prevalencia del 54%, González y colaboradores, manifiestan que al observar las tendencias en la prevalencia anticonceptiva en México, existe una disminución de la misma en relación con los estados que se encuentran ubicados en la frontera sur, asimismo los estados ubicados en la zona centro, tienen una menor prevalencia de anticonceptivos en relación con los estados ubicados en la frontera norte.

La Figura No. 1, muestra las preferencias anticonceptivas en México, tomadas en el año 2007, ^(20,21)

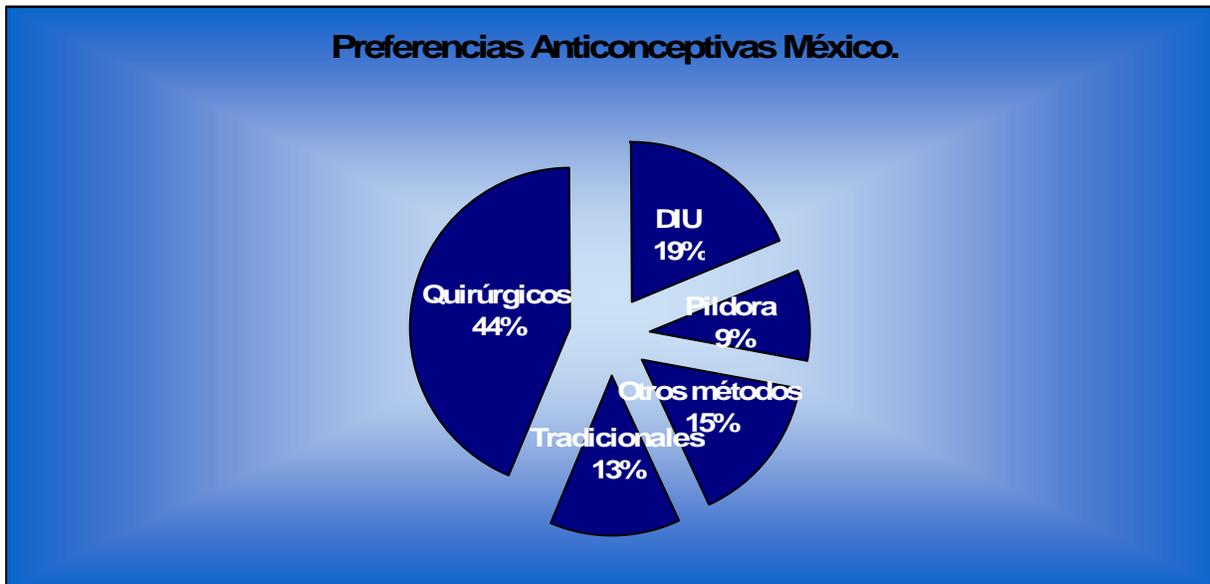


Figura 1; Se identifica una mayor preferencia por los medios quirúrgicos, en México, datos recogidos y condensados por Gonzáles y colaboradores.

2.3.-ANTECEDENTES DEL USO DE ANTICONCEPTIVOS A NIVEL ESTATAL

Hidalgo muestra el mismo comportamiento que las regiones centrales del país en cuanto a prevalencia anticonceptiva, sin embargo, también se considera que tiene una gran extensión territorial de zona rural, esta circunstancia, ha incrementado la abismal diferencia entre las zonas urbanas y rurales en cuanto uso, lo que da también paso, a una cifra elevada en cuanto a métodos tradicionales se refiere. ⁽²¹⁾

En Hidalgo, el INEGI asegura que en el año de 1997, el 63% de la población femenina usa algún tipo de anticonceptivos, en ese mismo año la misma encuesta arroja que, un 93.3% de la población conoce al menos un método anticonceptivo, este último dato, posiciona al estado dentro de los primeros lugares en conocimiento de anticonceptivos. ⁽²²⁾

2.4 FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN.

Las principales estructuras del aparato reproductor femenino son: Vagina, útero, trompas uterinas y ovarios. Ocurren cambios cíclicos mensualmente en la función ovárica, hormonas femeninas y estructura de la túnica interior del útero, estos cambios se conocen colectivamente como ciclo sexual femenino. Al nacer se encuentran en los ovarios cientos de miles de óvulos inmaduros llamados ovocitos primarios. Durante cada ciclo sexual mensual empiezan a proliferar las células foliculares que rodean a varios de estos ovocitos, y se desarrollan en los ovarios folículos vesiculares, uno de estos folículos se hace mucho mayor que los otros, y se rompe más o menos al día 14 del ciclo, con la liberación del óvulo hacia la cavidad pélvica, esto es lo que se llama ovulación. A continuación el óvulo se transporta hacia el útero por una de las trompas uterinas y si ha sido fecundado en su trayectoria se desarrollará un nuevo ser humano. ⁽²³⁾

Durante las primeras dos semanas del ciclo sexual, las células foliculares de los folículos en crecimiento, secretan grandes cantidades de estrógenos. A continuación, después de la fecundación las células foliculares del folículo roto, se convierten en cuerpo lúteo que también secreta grandes cantidades de progesterona.

El crecimiento de los folículos es causado en particular por la hormona estimulante del folículo, secretada por la hipófisis anterior, y la responsable de la ovulación es sobre todo la hormona luteinizante, del mismo origen. El ritmo del ciclo sexual femenino se debe a una serie compleja de interacciones de retroalimentación entre las dos hormonas ováricas y las dos hormonas de la hipófisis anterior. Durante la primera mitad del ciclo sexual la túnica que reviste el interior del útero llamado endometrio, se engruesa varias veces a causa de la proliferación notable de sus células y el crecimiento de las glándulas endometriales, estos efectos son causados por los estrógenos que secretan en la fase inicial del ciclo, durante la segunda mitad del mismo y bajo la influencia de estrógenos así como de progesterona el endometrio, se engruesa otras dos veces a causa de la congestión de los tejidos endometriales, además, se vuelven muy secretorias las glándulas del endometrio, en este momento ya está listo para la implantación del óvulo fecundado, sin embargo si no se implanta dicho óvulo, el cuerpo lúteo entra en involución y al perderse su secreción de estrógenos y progesterona, sobreviene la menstruación. El óvulo puede ser fecundado por un espermatozoide durante un periodo de 8 a 24 horas después de la ovulación, de manera

adicional los espermatozoides pueden sobrevivir en el tracto genital femenino de 24 a 48 horas. Así pues, para que ocurra la concepción con éxito, debe ocurrir exposición sexual poco antes de la ovulación, o bien, pocas horas después de ocurrida. La ovulación ocurre casi en 14 días, exactamente antes de la menstruación, por tanto en cualquier mujer que tenga un ciclo sexual normal, la ovulación ocurrirá el decimocuarto día después de iniciado el periodo. ⁽²⁴⁾ La fecundación del ovario suele producirse en la primera porción de la trompa de falopio, penetra un solo espermatozoide por la membrana del óvulo, con sus 23 cromosomas impares al ovario, lo que constituye el complemento total de 46 cromosomas distribuidos en 23 pares, esto desencadena un proceso de división celular que culmina en la formación de un ser humano completo. Aproximadamente 7 días después de la fecundación, la masa de células en división, llamada ahora blastocisto, se implanta en el endometrio uterino. Las células exteriores del blastocisto llamadas trofoblastos, forman las membranas fetales y la placenta; las células internas forman el embrión que se convertirá en el feto. Durante las primeras semanas después de la implantación del óvulo el blastocisto obtiene su nutrición por medio de digestión trifoblástica y fagocitosis del endometrio; sin embargo, aproximadamente durante la segunda semana del embarazo, la placenta se ha desarrollado a un grado que brinda a continuación, esencialmente todos los nutrientes requeridos al embrión. La placenta está compuesta por una parte materna y otra fetal, la parte materna consiste en muchas grandes cavidades llamadas senos placentarios, por las que fluye la sangre de la madre continuamente, la parte fetal esta constituida principalmente por una masa de vellosidades placentarias, que hacen protución hacia los senos placentarios y por las que pasa la sangre fetal. Los nutrientes se difunden desde la sangre materna por la membrana de la vellosidad placentaria hacia la sangre fetal, y se transportan por el cordón umbilical, hacia el feto este a su vez las excreta como resultado del metabolismo, por ejemplo CO₂, urea y otras sustancias, éstas se difunden desde la sangre fetal hacia la sangre materna y a continuación se excretan hacia el exterior por los órganos secretores de la madre. La placenta segrega cantidades enormes de estrógenos y progesterona, aproximadamente 30 veces lo que arroja el cuerpo lúteo, estas hormonas son muy importantes para promover el desarrollo del feto, durante las primeras semanas del embarazo la placenta también segrega, otra hormona, la gonadotropina coriónica, que estimula el cuerpo lúteo y lo hace seguir secretando estrógenos y progesterona durante las primeras semanas del embarazo estas hormonas del cuerpo lúteo, son esenciales para que prosiga el embarazo durante las 8, a las 12 primeras semanas, pero después de las mismas,

la placenta secreta estrógenos y progesterona en cantidades suficientes para que prosiga el embarazo. Al final de los 9 meses aproximadamente de crecimiento y desarrollo, el producto formado por completo se expulsa del útero, proceso llamado parto, aunque no se conoce la causa exacta del parto, indudablemente es resultado de factores como: Estimulación mecánica por el niño que aumenta de tamaño, cambios en la magnitud de secreción de las hormonas placentarias en especial estrógenos y progesterona. (24, 25)

Las estructuras básicas de todos los órganos fetales se desarrollan durante los primeros tres meses del embarazo, sin embargo estos órganos no son totalmente maduros hasta el final del periodo de gestación completo de nueve meses. (25)

2.4.1 ANTICONCEPCIÓN

Se define como la prevención de la concepción o la fecundación. Anticonceptivo se define como toda conducta, método, sustancia o elemento natural o artificial que tiene la finalidad de evitar la génesis de un embarazo (26)

La anticoncepción representa el derecho de cada persona a decidir de manera libre, responsable e informada si quiere tener hijos, así como su número y espaciamiento. (27) Proporciona una forma segura y eficaz de regular la fertilidad y proteger la salud (28).

La práctica anticonceptiva es un medio a través del cual las parejas pueden cristalizar sus preferencias reproductivas; sin embargo, la capacidad de las parejas para regular su reproducción, depende en buena medida del acceso a los Servicios de Planificación Familiar y salud reproductiva. (29)

La planificación familiar en México ha presentado cambios importantes en los últimos 25 años, lo más representativo es que a mediados de los años 60 la tasa de fecundidad alcanzó su valor máximo histórico, esto debido entre otras razones, al ambiente cultural y económico que favorecía la proliferación de familias numerosas, aunado a la política pronatalista de ese momento, la cual imponía restricciones importantes a la información acerca de los métodos anticonceptivos.(30) La legislación en materia reproductiva en México debió cambiar de acuerdo con las presiones internacionales; hubo debate tanto nacional como internacional sobre las consecuencias económicas y sociales del crecimiento poblacional acelerado y descontrolado, lo cual condujo a un replanteamiento de la política nacional de reproducción, y fue en el año de 1973 cuando se modificó el código sanitario. En enero de 1974, se creó

una nueva ley poblacional ⁽³¹⁾, y para 1984 se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Ley General de Salud, en donde se mencionó que la planificación familiar es materia de salubridad general y que tiene carácter prioritario; y ya en el 2004 se incorporó toda la diversidad de métodos anticonceptivos ya sean naturales, sintéticos etc. que hayan demostrado eficacia y seguridad. ⁽³²⁾

Existen varios métodos anticonceptivos: los hay permanentes, temporales, reversibles, irreversibles, de corta duración, y de efectos prolongados tanto para hombres como para mujeres, su administración puede ser oral, parenterales de acción local o sistémica, invasivos y de barrera.

2.4.1.1 ANTICONCEPTIVOS FEMENINOS

El dispositivo intrauterino (DIU) es la práctica moderna de un proceder antiguo, que consistía en introducir piedras u objetos en el útero de camellas para impedir el embarazo durante las travesías en el desierto. Para 1960 comienza el uso de los dispositivos Intrauterinos (DIU) y se le define como un método inerte o de primera generación de forma generalizada y es a mediados de esta década cuando la tasa de fecundidad alcanzó su máximo valor histórico; para el año 1972 aparecen los de segunda generación, los dispositivos elaborados con cobre. En 1973 el DIU se combina con el uso de anticonceptivos locales aplicados en el endometrio. En 1976 se usa el dispositivo intrauterino con liberación diaria *in situ* de progesterona, en 1978 se comprueba la eficacia y tiempo de vida de hasta 5 años del DIU, desde entonces se considera como una opción importante para el espaciamiento de los hijos que se planea tener en cada familia en 1984 se propone el uso del anillo vaginal silástico de 3 capas que contiene levonorgestrel y estradiol con una duración de hasta por 3 semanas, este es un dispositivo que no requiere una constante supervisión médica, debido a que su uso no es concretamente intrauterino; para 1992 se combinó el uso del DIU con anticonceptivos hormonales orales, con el propósito de obtener una mayor protección contra el embarazo no deseado. ⁽³³⁾

Los anticonceptivos orales femeninos; en 1925 Loewe informó por primera vez de la existencia de hormonas femeninas extraídas de sangre de diferentes especies animales de género femenino en el periodo de estro, para 1926, Loewe y Lange lograron determinar la existencia de estas sustancia en orina humana, fué de alta relevancia, el descubrimiento de

mayores rendimientos de la molécula en cuestión, en extractos de orina de mujeres embarazadas y de mujeres en periodo de menstruación, en 1929 las investigaciones de Corner y Allen llegaron a la conclusión de que las hormonas femeninas inyectadas en animales de experimentación gestantes producía aborto, no tardaron en surgir nuevas investigaciones en las que se dilucidaba que las antes anunciadas hormonas sexuales, juegan un papel muy importante en la reproducción, en 1927 Haberlandt propuso el uso de hormonas femeninas como anticonceptivos, en su trabajo titulado "*On the hormonale sterilization of female animals*" en este documento informó sobre la esterilidad temporal en roedores, a los que se les había administrado un extracto de placenta y ovario, en 1930 se aislaron algunas de estas sustancias femeninas y se denominaron como estrógenos. En el año de 1933 se aisló en los cuerpos amarillos de cerdos hembra, durante el periodo de estro una hormona de características diferentes a los estrógenos, esta sustancia, mas tarde en el año de 1934, se le denominó como progesterona, en el año de 1940 se descubrieron las progestágenas de origen vegetal a partir de la diosgenina, extraída de la *Dioscoria composita* (Wild jam) planta proveniente de México y Norte América, útil para la medicina tradicional Maya y Azteca, este hito permite la realización de gran cantidad de investigaciones y experimentación con los compuestos hormonales de tipo progestágenos dado que su síntesis de origen vegetal permite que disminuya de manera considerable el precio de su adquisición, en 1950 se sintetizan otras sustancias con actividad similar a la progesterona con el objetivo de su comercialización a gran escala, en 1956 Pinkus García y Rock demuestran que una de ellas denominado noretinodrel, inhibe la ovulación, a pesar de que irónicamente buscaban un efecto antiinfertilidad con el tratamiento de progestágenos y estrógenos combinados, estas conclusiones conduce a la comercialización de estos productos en 1959, sin embargo debido a la experiencia obtenida previamente por la industria farmacéutica con la venta de estrógenos (dietilestilbestrol) que generaban Reacciones Adversas de importancia clínica se manufacturan preparaciones de progestagenos "solos" sin embargo, esta forma farmacéutica estaba contaminada de manera, no intencional, con una pequeña porción de estrógeno (mestranol), al corregirse esta falla, la comunidad médica se percató de Reacciones Adversas de importancia clínica como la hemorragia intermenstrual, e incluso fallas terapéuticas como anticonceptivo, dado que no interrumpía la ovulación en todos los casos, por esta situación se reincorporó la presencia de mestranol, de tal suerte que desde entonces se usan combinaciones de estrógenos y progestágenos como anticonceptivos.

En la época actual existen varios tipos de anticonceptivos orales entre los que destacan los estrógenos aislados, los progestágenos solos, estrógenos y progestágenos combinados que pueden administrarse en dosis fijas, secuenciales, también llamados de tipo bifásico o trifásico, en estos, se varían las dosis de los principios activos adecuándolos al ciclo ovárico, disminuyendo las dosis hormonales con lo que se consigue disminuir las Reacciones Adversas, también se encuentran disponibles los llamados depósito (inyectables), entre los cuales se encuentran los estrógenos sintéticos, etinilestradiol y mestrenol, los progestágenos como la medroxiprogesterona, megestrol, clormadinon; también se encuentran los derivados de la testosterona como la noretisterona, el noretinodrel, norgestrel, y el linestrenol. Los principales mecanismos de acción de los anticonceptivos orales es directamente sobre el eje hipotálamico-hipofisiario, disminuye la frecuencia de los impulsos la hormona liberadora de gonadotropina lo que repercute sobre la secreción de hormona luteinizante, lo que tiene un efecto negativo en la ovulación, inhibición la secreción de hormonas ováricas como la hormona estimulante del foliculo, imposibilitando la ovulación, así mismo disminuye la motilidad y secreción en las trompas de Falopio, el endometrio se atrofia por la disminución de glucógeno, el moco cervical se hace más espeso y menos permeable y dentro de la vagina existe una disminución de leucocitos y disminución de secreciones ⁽³⁴⁾

Los anticonceptivos parenterales, son de dos tipos, uno es el depósito de medroxiprogesterona, de 150 mg. que tiene una duración de eficacia de 3 meses y noretisterona de 200 mg. que tiene una duración de 2 meses su mecanismo de acción es el aumento de cantidad y densidad del moco cervical, disminución del peristaltismo tubario, cambios en la función ovárica disminución de las ovulaciones en un 40 % aproximadamente. Los implantes subdérmicos, son pequeños tubos de silicona de 2.4mm de diámetro y 3.4cm de longitud y cada uno contiene levonorgestrel, se implantan en la cara interna del brazo y poseen un efecto de hasta 5 años.

La anticoncepción postcoital, consiste en el uso de anticonceptivos con actividad estrogénica que inhiben la implantación del cigoto en las paredes del útero, y que puede ser utilizado después de las siguientes 48 horas posteriores al coito, un representante de ellos es la mifepristona, esteroide derivado de la noretisterona e inhibidor competitivo de la progesterona, la principal indicación de este medicamento es para la interrupción de embarazos no deseados debido a su alto riesgo de muerte para la madre, o bien cuando es producto de una violación. Para el año 1973 se inician los primeros estudios para el uso de

los anticonceptivos vaginales, dentro de los cuales destaca el uso de anillos vaginales que liberan dosis de esteroides para inhibir la ovulación. el anillo silástico se introduce dentro de la vagina, tiene una apariencia plástica, y tiene un alto grado de eficacia, genera menor cantidad de Reacciones Adversas en comparación con los anticonceptivos hormonales sistémicos, también constituyen un método eficaz durante la lactancia sin efectos nocivos en la leche materna ni el desarrollo del bebe gestante, surgen también esponjas vaginales anticonceptivas, que contienen espermaticida nonoxinol-9 y están hechas de poliuretano de 5cm de diámetro los cuales pueden insertarse 24 horas previas al coito, las cuales previamente hay que humedecerlas con agua para activar el espermaticida. La esponja debe cubrir el cérvix y debe retirarse no más de 6 horas después del coito.

En 1985 se diseña y comercializa el anillo vaginal que libera dosis fijas de progestágenos, y en 1991 aparecen los anillos vaginales con progesterona, los cuales constituyen un método eficaz durante la lactancia sin efectos nocivos en la leche materna ni el desarrollo del lactante; otro rubro lo constituyen los espermaticidas, anticonceptivos que se encuentran en diferentes preparaciones comerciales, desde aerosoles, espumas, cremas, toallas sanitarias, jaleas vaginales o supositorios vaginales. Se usan poco tiempo antes del coito, y actúan inhibiendo la motilidad espermática, dificultando la llegada de los espermatozoides hacia el útero. (35)

Existen también los diafragmas vaginales, los cuales son de tres tipos; vimule, cervical y dumas. Son capuchones cervicales de goma con borde flexible con espermaticidas, se introducen en la vagina y cubren el cuello uterino evitando así el paso de espermatozoides al útero, entre sus ventajas destaca que no tienen efectos adversos, pueden colocarse tiempo antes al coito, y dan cierta protección contra enfermedades de transmisión sexual (ETS), las desventajas es que no se usan mucho debido a problemas culturales, ya que involucra manipulación de genitales, y requieren control y asesoría médica después del parto.

El condón femenino aparece por primera vez en el Reino Unido, y consiste en una holgada bolsa de poliuretano de 15cm de largo y 7cm de diámetro, sujeto alrededor de su extremo libre se encuentra un anillo exterior de poliuretano flexible que cubre la vulva, y otro interior que se desplaza dentro de la vagina y se ajusta al cuello uterino como un diafragma. Previene el embarazo, enfermedades de transmisión sexual, pero su costo rebasa los precios de los condones masculinos por aproximadamente el 100% de su valor (36)

Otra herramienta de salud reproductiva en la mujer lo conforman el conjunto de técnicas quirúrgicas dentro de las que se encuentran la ligadura y corte de las trompas de Falopio (salpingoectomía), método prácticamente permanente del control de la natalidad, ya que imposibilita el paso de los óvulos a través de las trompas seccionadas. Actualmente tiene variantes, siendo la más usada en nuestro país la salpingectomía parcial bilateral por el método Pomeroy. ⁽³⁷⁾

2.4.1.2.-ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS

Los condones masculinos, son pequeños sacos elaborados a base de hule látex, que, generalmente se lubrican con un espermaticida, se colocan sobre el pene y funcionan como barrera mecánica entre los espermatozoides y la vagina.

Otro método usado es el del retiro, o coito interrumpido, esta es la técnica más antigua de la anticoncepción humana. ⁽³⁸⁾

En Europa, la abstinencia periódica se ha utilizado durante siglos, este método evita el coito durante la fase preovulatoria del ciclo menstrual, aquí se toma en cuenta la variación de la temperatura corporal femenina, consistencia y color del moco cervical.

El método quirúrgico más usado y conocido la vasectomía, el cual consiste en la sección de los conductos seminales, y tiene un 99% de eficacia. ⁽³⁹⁾

Actualmente se están estudiando otro tipo de métodos anticonceptivos consistentes en la utilización de implantes masculinos subdérmicos, que constarían de dos cápsulas subdérmicas que liberarían una baja dosis de hormonas (LHRH-13) las cuales suprimirían la espermatogénesis manteniendo el impulso sexual. Dentro de los productos inyectables, se ha probado el enantiato de testosterona que inhibe al 100% la espermatogénesis en hombres de origen asiático, sin embargo, solo alcanza un 60% de eficacia, aproximadamente, con varones de otras etnias; también se estudia, el aceite de algodón que contiene una sustancia conocida como gosispol, que ha probado una eficacia importante, sin embargo, tiene efectos adversos potencialmente peligrosos, tales efectos son la disminución de las concentraciones séricas de potasio, lo que conlleva directamente a desarrollar afecciones de tipo cardiaco, no obstante, se están probando dosis menores que consigan el efecto deseado sin las consecuentes reacciones adversas. Algo innovador es la vacuna antifecundidad, la cual propone la generación de anticuerpos contra los espermatozoides. ⁽⁴⁰⁾

2.4.2.-DESVENTAJAS DE LOS ANTICONCEPTIVOS MAS COMÚNMENTE USADOS.

El actual uso de anticonceptivos orales, se asocia a un aumento en el riesgo de desarrollar cáncer invasivo de cuello de útero, este riesgo aumenta a medida que lo hace la duración del tratamiento anticonceptivo, de forma que más allá de los 5 años de tratamiento las posibilidades se duplican en comparación con mujeres que nunca han consumido estos medicamentos. Mediante ensayos farmacoepidemiológicos se han creado vínculos de causalidad entre la administración de anticonceptivos hormonales y el aumento en el riesgo para desarrollar cáncer de seno. ⁽⁴¹⁾ A pesar de que hoy en día existen una gran cantidad de anticonceptivos disponibles no todos los habitantes de nuestro estado tienen acceso a ellos, y en caso de que así lo fuese, tal vez el método elegido no sea el más adecuado para las necesidades personales según sea el caso; por ejemplo, el método de abstinencia periódica tiene un alto grado de ineficacia, su práctica exige una cercana asesoría de médicos bien informados sobre la técnica de planificación familiar, y los practicantes deben seguir al pie de la letra cada una de las indicaciones del médico, el conocimiento de ciertos aspectos sexuales tales como el ciclo ovárico, duración de la menstruación entre otros es indispensable para la correcta implementación del método de la abstinencia periódica, esta característica no la hace compatible con gran cantidad de la población mexicana que lo usa; el método del retiro se reconoce como un método poco confiable dado que bajo ciertas características de fertilidad, de cada miembro de la pareja, esto es calidad del moco cervical, consistencia, parte del ciclo ovárico en el que se realiza la relación sexual, movilidad de los espermatozoides, implica un riesgo de embarazo de un 25% pese a que se utilice la metodología del *coitus interruptus* de manera perfecta; los condones femeninos tienen la desventaja de ser poco populares dado que requieren manipulación genital y enfrentan problemas culturales para su uso, asimismo es costoso es elevado, y su distribución es escasa en México y sobre todo en el territorio hidalguense; el DIU para mujeres que no han tenido hijos se asocia a una mayor incidencia de embarazos ectópicos, rechazo al dispositivo, y requiere constante supervisión médica especializada para la adecuada colocación del dispositivo, su uso se restringe para pacientes cuya separación de los embarazos sea de a 5 años, lo cual disminuye la cantidad de mujeres que prefieren su uso; el condón masculino puede tener problemas de eficacia si no se coloca adecuadamente, pero las desventajas más importantes de todas las antes mencionadas las representa la accesibilidad y la

asequibilidad, ya que aún, si la relación riesgo / beneficio de un anticonceptivo es razonable, no se puede usar si no se tiene y/ó no se puede comprar. También en su mayoría requieren supervisión médica y no es posible conseguirla si no existe un médico a quien acudir dentro, o en las cercanías de las comunidades más alejadas de nuestro estado. (42)

2.5.1.-USO DE PLANTAS MEDICINALES.

En base a una estimación realizada por la OMS aproximadamente un 80% de la población mundial utiliza las plantas como principal remedio medicinal, cuya práctica, radica esencialmente en el empirismo y faltan estudios químicos, clínicos que comprueben de forma fehaciente los efectos biológicos de las plantas y principios activos responsables, a partir de la Declaración de Alma Ata, este mismo organismo propuso apoyar la utilización tanto de los recursos tradicionales como de los propios de la medicina generada en el modelo biomédico, existe una gran cantidad de plantas medicinales con actividad biológica atribuible, es decir que hay un campo de estudio de gran tamaño que debe estudiarse, la medicina tradicional es un elemento cultural con profundas raíces de todas las civilizaciones del planeta según la OMS entre el 65% y 85% de la población del planeta recurre a la herbolaria para atender la curación de diversos padecimientos y enfermedades. La sabiduría popular conoce las cualidades curativas de muchas plantas de su medio y, sin duda, a través del tiempo ha estimulado a la ciencia para describir los principios activos de especies botánicas De las 300,000 especies de plantas nativas, calculadas para México en 1997 el Instituto Nacional Indigenista refiere solo a 3000 con usos medicinales, para patologías en general, dentro de los mismos se encuentra el uso de anticonceptivos provenientes de plantas medicinales; de los aproximadamente 100 millones de mexicanos que somos actualmente solo un 40% tiene acceso a la medicina alopática (Hersch 2000), por esta razón se utiliza mucho la medicina tradicional dado que es un recurso disponible, accesible en términos culturales y económicos. Durante la administración del presidente Echeverría, época en la que existía una necesidad clara de medicamentos para la planificación familiar, se dispuso, como la alternativa mas viable, la ejecución de la medicina tradicional mexicana, para satisfacer las carencias de medicamentos de las Instituciones públicas, sin embargo, los científicos mexicanos de aquel momento no contaban con documentos formales sobre descripciones taxonómicas u otras herramientas que les permitiesen, dar un sustento teórico al intercambio de la medicina tradicional y uso de plantas medicinales, por reemplazo de la medicina

alopática, dado que no tenían datos fehacientes de seguridad y eficacia, por otra parte, no conocían los principios fitoquímicos, que fueran responsables de la actividad biológica de cada planta descrita por la medicina tradicional, pero, gracias al esfuerzo tanto de investigadores, como de instituciones como la UNAM, IMSS, SSA, etc. se sentaron las bases modernas del estudio sobre plantas medicinales con actividad anticonceptiva. ⁽⁴³⁻⁴⁶⁾

2.5.2.- PLANTAS CON EFECTO ANTICONCEPTIVO

Existe una gran cantidad de plantas medicinales usadas por el hombre a lo largo de la historia y de las diferentes culturas con fines anticonceptivos, mismas que se continúan usando hoy en día por los sobrevivientes herederos de este legado tradicional. La Organización Mundial de la Salud, se ha propuesto investigar a plantas medicinales a las que se les atribuya actividad antifertilidad, parte de la estrategia para reconocer la actividad biológica anti-fertilidad de los especímenes seleccionados, por principio de cuentas la OMS, ha referido como anticonceptivo aquellos metabolitos que actúan evitando la ovulación y/o impidiendo la fecundación del óvulo, por otra parte los metabolitos activos que actúan más allá de esta etapa, es decir que su mecanismo de acción interfiere con el desarrollo del embrión ya implantado en el útero, se les conoce como abortivos, asimismo, se ha integrado el término interceptivos, se ha aplicado en aquellos principios activos en los que su mecanismo de acción, se enfoca en el periodo de entre la fertilización y la implantación, en otras palabras, evitan la implantación del cigoto, existen varios órganos blanco de la actividad biológica anti-fertilidad de las plantas, por ejemplo el hipotálamo, la pituitaria anterior, el ovario, oviducto y útero incluyendo endometrio, miometrio, cérvix, y vagina, se han investigado los mecanismos de acción por los que los metabolitos pueden actuar como agentes antifertilidad, estos son: Glándula pituitaria/hipotálamo, la hipófisis anterior, segrega un número importante de hormonas necesarias para la reproducción, por ejemplo gonadotropina que acciona la liberación de la hormona luteinizante, la hormona folículo-luteinizante, estas hormonas hacen crecer el folículo después de la menstruación y promueven la ovulación. Las células granulosas de la pared folicular permiten la proliferación del cuerpo lúteo. Uno de los mecanismos más importantes para la anticoncepción es la interferencia de la función normal del hipotálamo y la pituitaria mediado por compuestos esteroides, no esteroides, con actividad antigonadotrópica por esteroides antagonistas o bien la interferencia del impulso neuronal desde el hipotálamo, se han identificado, que *Juniperus*

communis y *Phisalis alkenkengi* actúan a este nivel. Las sustancias con actividad biológica que actúan en el ovario, interfieren con la secreción de progestágenos y progesterona que son indispensables para el proceso de ovulación, la *Rivia hipocartereiformis*, actúa a este nivel, comportándose como antagonista de las hormonas femeninas endógenas, *Piper betle*, *Inula viscosa*, son otros ejemplos de este mecanismo de acción pero estos últimos también tienen efectos abortivos, al administrarse tiempo después de la cópula. Oviducto, es muy importante, que los cilios de los oviductos funcionen correctamente para transportar al cigoto desde el ovario hasta el útero, cualquier problema en la transportación que alargue el tiempo del transcurso, afectaría de manera importante, *Ixoria filaiconiana*, *Rosmarinus officinalis*, *Coleus barbatus*, son plantas anticonceptivas que han mostrado que afectan la utilidad ciliar de los oviductos. Los estrógenos y progestágenos aumentan la vascularidad y de acuerdo a la concentración y tipo de hormona promueven la contracción del útero, la *Acalipha indica* y *Citrus hystrix* alteran la concentración de estas hormonas en el aparato reproductor femenino, promoviendo el aborto. ⁽⁴⁷⁾

En México en la época actual existen trabajos de investigación dedicados a identificar a las especies de plantas medicinales que poseen efectos relacionados con la concepción, como los realizados en el Jardín Botánico de Morelos por Avilez y colaboradores, que hasta la fecha han conjuntado los conocimientos etnobotánicos en las inmediaciones territoriales del jardín antes citado, gracias al apoyo y participación de parteras que han aportado sus conocimientos en el uso de las siguientes especies: ***Theobroma cacao*, *Bervesina crocata* Ness, *Enecio salignus*, *Arachis hipogaea***. Estas especies desafortunadamente aún no cuentan con estudios más específicos encaminados a valorar mediante el uso de argumentos científicos la actividad biológica, por el momento solo se tiene identificado un extenso uso empírico en comunidades con arraigadas costumbres tradicionales, tales como la presencia de parteras y chamanes como máximas autoridades de salud, y la medicina tradicional como la herramienta de salud más importante⁽⁴⁸⁾ Algunas de las plantas medicinales más históricamente usadas con fines anticonceptivos, tanto de manera empírica como científica, son: ***Dioscorea villosa*, *D. Opositifolia*, *D. Opposita***, los aztecas y mayas las usaban como alimento y para tratar los problemas ginecológicos más comunes de su época, como la planificación familiar, dolores menstruales, dolores durante el parto, etc. La industria farmacéutica ha explotado al tubérculo debido a su alto contenido de diosgenina, que es un compuesto presente en la raíz de la planta, del que mediante un proceso químico,

se obtienen estrógenos de origen vegetal, el mencionado tubérculo generó prácticamente todos los progestágenos disponibles durante la década de 1940, dado que previo al descubrimiento de la obtención de la diosgenina de las “dioscoreas” solo se obtenían los progestágenos de orina humana o de extractos de órganos sexuales femeninos lo que la hacía poco menos que inaccesible, aunque posteriormente se encontraron maneras de originar compuestos con actividad progestágena de forma sintética, el uso tradicional de las plantas continúa teniendo una importancia imperante en las comunidades donde nace de manera silvestre⁽⁴⁹⁾ en la vasta cultura mexicana de medicina tradicional se conocen los efectos de **Montanoa frutescens** incorporada al conocimiento popular desde aproximadamente el XVI, esta información ha sido recopilada por instituciones de origen musulmán con sede en Nueva York y congregado esta sabiduría en su manual para la anticoncepción, en el se describen los conocimientos en del efecto antimotilidad en el espermatozoide y **Montanoa tormentosa**,⁽⁵⁰⁾ con un efecto también importante en mujeres, dado que de acuerdo con los hallazgos encontrados, desencadena el sangrado vaginal, por lo que, los musulmanes la consideran como abortivo, no esta de sobra recalcar que estos atributos medicinales fueron generados por el saber popular mexicano primero y después fue estudiado, y recopilado por musulmanes, adicionalmente la administración de **Cannabis sativa** por vía inhalatoria (fumada) proporciona un efecto negativo tanto en la libido, así como también la motilidad de los espermatozoides, en mujeres que la fuman, de manera crónica, puede producir una disminución de hasta un 70% de la fertilidad por ciclo (Jensen y colaboradores).⁽⁵¹⁾ **Lawsonia innertis**, es considerado en la medicina tradicional hindú, como una importante fuente de esterilidad humana. **Hisbiscus rosa sinensis** también proveniente de la medicina tradicional hindú también considerada como generador de esterilidad tanto en hombres y mujeres, por medio de estudios cuestionables, han demostrado eficacia en la anticoncepción al impedir la implantación del óvulo en el útero, asimismo disminuyen la espermatogénesis (Kholkute. y colaboradores).⁽⁵²⁾ **Malvaviscus consantii**, se ha identificado que tras la administración crónica de la planta produce daño en las células de los testículos, lo que deviene en una disminución importante e irreversible en la cantidad y viabilidad de los espermatozoides en el paciente que los toma (Joshi y colaboradores).⁽⁵³⁾ **Embelia ribes**, posee una importante actividad antiestrogénica, inhibe la implantación del cigoto, sin embargo gracias a su actividad biológica produce Reacciones Adversas importantes en las pacientes tratadas ya que ocurren desequilibrios hormonales, posteriores a la administración crónica de la planta (Prakash y colaboradores).⁽⁵⁴⁾

La ***Uncaria tomentosa***, conocida comúnmente como uña de gato cuya principal parte de la planta usada es la raíz, se han reconocido mediante la práctica de ensayos cualitativos de identidad la presencia de alcaloides, que mediante la experiencia médica se conocen los efectos teratogénicos de los mismos, incluso se conoce que en dosis tóxica propicia la expulsión del producto cuando este es menor de 5 semanas de gestación, sin embargo, no se ha determinado cual es el metabolito activo presente en la planta que responsable del efecto anticonceptivo, se conoce este efecto en el Perú, país en el que las tribus que viven en el bosque lluvioso de aquel país, los nativos de estas zonas proponen que la toma única de la decocción de la raíz durante el periodo de menstruación, le propina nada menos que de 3 a 5 años infertilidad, este efecto aún no se ha comprobado por medio del método científico.

⁽⁵⁵⁾ ***Ruta graveolens*** También conocida en México con el nombre genérico de ruda, se utiliza en la medicina tradicional básicamente el aceite esencial y decocciones extraídas de las hojas y flores, ó la planta completa, los análisis de identidad de metabolitos activos arrojan que contiene alcaloides, flavonoides, cumarinas, y lignanos, ensayos diseñados para identificar las concentraciones de metabolitos secundarios en *Ruta graveolens* han reportado una gran cantidad de alcaloides y flavonoides, también se han estudiado los efectos de los alcaloides sobre la fertilidad, y se ha concluido que estos inhiben la fertilidad, aditivamente los alcaloides y las cumarinas tienen un efecto espasmolítico en los músculos del útero lo que lo convierte en un serio prospecto de actividad abortiva, Mohsen y colaboradores, indagaron sobre la toxicidad de los extractos metanólico, diciclotmetanólico, hexánico de este espécimen, concluyendo que resultaron muy tóxicas en los lotes tratamiento, sin embargo, las porciones disueltas en etanol, y agua resultaron bien toleradas y solo en los casos en los que se administraron estos extractos pudieron encontrar algún efecto útil como anticonceptivo.

⁽⁵⁶⁾ ***Rubís idaeus***, la parte de la planta que se utiliza comúnmente son las hojas, esta planta es de uso muy popular en Europa y Estados Unidos, tiene una fama muy extendida como panacea de los malestares del embarazo, sin embargo, estudios realizados en ratas acerca del efecto en el músculo liso del útero del preparado elaborado con hojas de la hierba, demostró que produce contracciones en el aparato femenino, y en ratas preñadas indujo labor de parto, actualmente se requieren estudios mas concluyentes sobre el uso de la planta y sus presumibles efectos en el aparato reproductor femenino, así como la posibilidad de producir parto prematuro o aborto, por lo que autoridades europeas han aconsejado a su población se abstengan de tomar cualquier riesgo al consumir el té.

Dictamnus albus, de esta planta se usan principalmente las hojas secas o frescas lo mismo que la raíz, se han

podido aislar alcaloides de las parte que se consideran tienen propiedades medicinales (hojas y raíz), otros compuestos que se han encontrado en ensayos cualitativos son cumarinas, y flavonoides, aún no se han encontrado suficientes evidencias para considerarlo como tratamiento seguro para la concepción, en base a estudios realizados en animales, se ha sugerido un efecto anti-implantación en el útero, por lo que se considera como anticonceptivo. ⁽⁵⁷⁾ ***Stevia rebaudiana***, las partes de la planta que se utilizan de manera tradicional son las hojas, las sustancias activas que se han encontrado son principalmente diterpenos y flavonoides, estudios en animales proponen que produce un efecto anticonceptivo, en la decocción de la planta a un 5% en ratones disminuye la fertilidad hasta un 65% (Sutajjit y colaboradores), otros estudios (Planas y Kuc) ⁽⁵⁸⁾ sugieren que el efecto anticonceptivo puede durar hasta 60 días después de la discontinuación del tratamiento, y que incluso es efecto puede extenderse hasta un 75% de eficacia en la disminución de la fecundidad de los sujetos de estudio. ⁽⁵⁹⁾ ***Abrus precatorius***, las partes de la planta que se usan de manera tradicional con fines terapéuticos son las hojas la raíz y las semillas de la misma, esta planta se encuentra de manera abundante en la India, y se le puede encontrar en algunas zonas tropicales del planeta, en la medicina tradicional Estadounidense se ha utilizado como anticonceptivo, sin embargo se utiliza con poca frecuencia dado que se ha advertido que las semillas desencadenan un fuerte efecto tóxico, ya que al solo consumir 2 de ellas en una sola toma puede provocar incluso la muerte en niños o severos casos de intoxicación en adultos, los principales efectos son sobre el sistema gastrointestinal y el sistema circulatorio, debido a este hecho el interés por estudiar las propiedades medicinales de la planta han sido nulos por parte de la comunidad científica. ***Arisaema triphyllum*** generalmente se utiliza el tallo de la planta en la medicina tradicional, existen prácticamente nulos conocimientos en la composición química y metabolitos secundarios presentes en la planta, se conoce mediante la medicina tradicional china que tiene un efecto irritante en el sistema gastrointestinal, sin embargo se ha usado durante varias generaciones como fuente de control de la fertilidad, aún no se conocen estudios de corte científico que respalden el uso empírico de la planta, virtualmente existe nula información de la planta más allá de la recopilada por encuestas de opinión diseñadas para obtener información del uso empírico en lugares donde crece y se utiliza como parte de la atención a los padecimientos más comunes tanto en China como en Estados Unidos en la comunidad de Indios Hopi. ^(59,60) ***Caulophyllum thalictroides***, las partes mas usadas son las hojas y los tallos, se ha determinado mediante ensayos cualitativos que posee dentro de los metabolitos activos

alcaloides, además se han aislado mediante procesos de purificación sustancias con actividad oxicítica, motivo por el que diferentes tribus nómadas americanas han usado la planta como herramienta durante la labor de parto, también se le atribuye actividad abortiva, dado que desencadena menstruación al administrarse de manera crónica en forma de decocción en dosis aguda, en estudios mas recientes se han identificado, la existencia de triterpenos como metabolitos secundarios. ***Petrosilium crispum***, se ha utilizado esencialmente desde hace ya 2000 años esencialmente como condimento en la cocina europea, pese a que el conocimiento y utilización de la planta es muy antiguo, son pocas las referencias científicas sobre sus poco difundidos efectos medicinales, los frutos se utilizan para provocar aborto, y para tratar otros padecimientos femeninos, son necesarias investigaciones mas profundas sobre los efectos de la planta tanto en animales como en seres humanos, y también es indispensable identificar los principales metabolitos de la planta, dado que hasta el momento no existen investigaciones publicadas el respecto.

Gossipium herbaceum las partes activas de la planta son la raíz, y las semillas, ya sea frescas o bien desecadas, se ha identificado en el aceite esencial extraído de las partes de la plante la presencia de sesquiterpenos, y gossipol, esta última sustancia ha demostrado poseer importantes efectos en el proceso de formación de espermatozoides así como un descenso importante de la libido en varones, en mujeres embarazadas, se conocen efectos embriotóxicos en dosis agudas en dosis crónicas produce la muerte del feto o embrión. ⁽⁶¹⁾

Vicoa indica se han realizado estudios de fase I y II en el uso de esta planta, para probar su uso, con eficacia y seguridad como anticonceptivo, en estas investigaciones se formaron 2 grupos de mujeres de 25-35 años a las que se les administró el preparado de manera tradicional durante 2 periodos ovulatorios consecutivos, se probaron en este estudio se demostró que al incrementar la dosis y la posología se aumentaba el éxito del tratamiento anticonceptivo.⁽⁶²⁾

Tripterygium wilfordii, es una especie vegetal proveniente de la medicina tradicional china, la planta contiene metabolitos secundarios tales como triterpenos, diterpenos, alcaloides, se ha administrado a lo largo de varias dinastías como remedio en el tratamiento de síntomas gastrointestinales, sin embargo se reconoció el efecto colateral de infertilidad reversible en varones a los que se les administraba la decocción de la planta elaborada a partir de las hojas, Shi Yu-Liang y colaboradores investigaron este dato mas a fondo al administrar a un grupo de ratones macho de la cepa CD1 en el que se vislumbró tras analizar las concentraciones de testosterona en la sangre de los ratones, que no había variabilidad, con el grupo control, al extirpar el tejido reproductivo de los ratones se

observó un grado de degeneración de las células espermáticas, lo influyó en la disminución de la maduración de los espermatozoides creados en el periodo de tratamiento. ⁽⁶³⁾ ***Phisalis alkankengi*** la historia en anticonceptivos de la medicina herbolaria antigua, cita a esta especie desde la época de los persas, y este uso se extendió a lo largo del tiempo en la India Europa del Norte, América del Norte, estudios cuantitativos demuestran una gran concentración de vitamina C en la planta, se han realizado estudios de la especie vegetal como anticonceptivo en mujeres ya que se conoce que produce cambios en el útero lo que impide la implantación del óvulo fecundado, también se ha usado extensamente como abortivo, en las diferentes regiones de Asia donde crece de manera silvestre, las investigaciones de Sanchooli Nacer y colaboradores, describen su ensayo de fertilidad practicado en ratones con inyección intraperitoneal de la planta de forma consecutiva durante 30 días, de un extracto alcohólico, al finalizar el periodo de tratamiento y realizar la observación del tejido reproductivo de los miembros del experimento se apreció una necrosis importante de los túbulos seminales, degeneración de todo el tejido testicular, disminución de la cantidad de testosterona circulante ⁽⁶⁴⁾

Existen más de 300 plantas que poseen actividad estrogénica, por medio de investigaciones encaminadas a identificar a las moléculas responsables de la actividad antifertilidad en el aparato reproductor femenino de algunas de estas especies vegetales (la soya por ejemplo), los científicos han vislumbrado que algunas clases de flavonoides (isoflavonas), que son un grupo de fenoles policíclicos, por ejemplo; genisteína, aidzeína y biochanina, muestran actividad estrogénica (fitoestrógenos), esta actividad deriva de la gran similitud que posee su estructura con los estrógenos endógenos, esta característica conformacional, les permite modular cambios hormonales y alterar la actividad reproductora del huésped. Los estrógenos juegan un papel muy importante en el sistema reproductor, por lo que una larga exposición a estos compuestos puede producir infertilidad de manera irreversible, de acuerdo con un estudio experimental elaborado por Khalil Enas y colaboradores, la eficacia en el uso de ***Sylibum marianum***, planta medicinal egipcia, de cuyas semillas se elabora un preparado que es conocido como silimarín, este aceite se obtiene a partir de las hojas de la planta, incluso se ha probado se eficacia tras la administración oral poscoital en un grupo de ratones, en este modalidad se observó un aumento en la hormona estimulante del folículo, sin embargo, la concentración de estrógenos circulantes no se altera, al observar el tamaño de los folículos se pueden apreciar en franco crecimiento, la pared del útero de las ratonas

tratadas presentaba cambios importantes, en general, se mostraba en condiciones inestables para permitir la implantación de los óvulos fecundados en las ratonas, mediante ensayos cualitativos se observó la presencia de flavonoides, a estos se les responsabiliza directamente por la actividad anticonceptiva, (Bombardelli 1995), Khalil y colaboradores plantearon un diseño experimental en roedores tanto macho como hembra, administraron en dosis altas, un preparado de plantas, esto dió como resultado un 100% de infertilidad en los especímenes tratados, tanto hembras como machos, las administraciones fueron de tipo agudo. ^(65, 66) De acuerdo con un estudio realizado por Bhatt y colaboradores. Se mostró en los grupos tratados y las diferencias con 2 grupos no tratados, se observó una disminución importante en la movilidad y viabilidad de los espermatozoides, estos individuos fueron tratados por hasta 90 días, los resultados fueron tratados por medio de una T de *student* de varianza ANOVA. ⁽⁶⁷⁾

Las investigaciones de Rajesh y colaboradores. y. Se menciona la utilización de dos grupos un control y un grupo tratado, para cuyo análisis usaron un método estadístico de análisis de T de *student* dispar en la que relacionaron los títulos de anticuerpos contra espermatozoides y la infertilidad. ⁽⁶⁸⁾

La utilización de plantas medicinales con fines anticonceptivos ha ido en aumento a nivel mundial; en el continente Africano encuestas de opinión realizadas por investigadores de Organización Mundial de la Salud, así como investigadores de universidades de algunos países como Nigeria, han aportado conocimientos importantes así como que la mayoría de la población usa más a la medicina tradicional que la medicina alopática, ésta última ha tenido a lo largo del tiempo pobre penetración en aquel continente asimismo sus niveles tan altos de marginación y pobreza han logrado hacer que, gracias a la globalización se asimilen nuevas especies medicinales y formen parte del arsenal terapéutico. Los fitoestrógenos que poseen una estructura muy similar a los compuestos hormonales endógenos, se asocia con una disminución directa en la presentación de reacciones adversas; por citar algún ejemplo de ello, la terapia de reemplazo hormonal en mujeres pre y menopáusicas y se usan con mucha demanda en el África Subsahariano. ^(48, 49, 69)

En el Estado de Hidalgo se cuenta con poca información de tipo científica, respecto del uso de la medicina tradicional en el ámbito anticonceptivo, Villavicencio y colaboradores

describen sus hallazgos etnobotánicos de plantas útiles, en la que listan, como una única herramienta en la planificación familiar, de origen vegetal, a la especie *P. calyculatus*.⁽⁷⁰⁾

2.5.2.- DESCRIPCIÓN DE *P. CALYCVLATUS*.

2.5.2.1.- Descripción botánica.

El *P. calyculatus* pertenece a la familia *Loranthaceae*, se encuentra principalmente en zonas boscosas, sus flores miden aproximadamente 3 cm. de largo, son de color rojo o anaranjadas, muy vistosas, no inmersas en el eje de la inflorescencia, expresa arbustos erectos o semierectos, por lo común glabros, tallos tetragonales, cuadrangulares o rollizos, sin catáfilas, hojas lanceoladas, a ovadas, de consistencia subcarnosa, glabras y flores dispuestas en triadas, fruto en baya morado cuando maduro,⁽⁷¹⁾ se muestra en la figura 2 como se dispone sobre su hospedero. Es una planta hemiparásita que crece en la copa de los árboles de cítricos, coníferas, leguminosas, árboles frutales y maderables, incluso se le puede ver a orillas de la carretera, junto arroyos, etc. en la tabla 2 se muestra una relación del hábitat de los hospederos, así como sus nombres científicos.⁽⁷²⁾



Figura 2. *P. calyculatus* que se encuentra parasitando un árbol de cítricos.

Género	Especie	Hospedero	Hábitat
<i>Psittacanthus</i>	<i>calyculatus</i>	<i>Acacia</i> sp.	Matorral espinoso en transición.
<i>Psittacanthus</i>	<i>calyculatus</i>	<i>Fraxinus</i> sp.	Zona urbana.
<i>Psittacanthus</i>	<i>calyculatus</i>	<i>Hedera helix</i>	Zona urbana.
<i>Psittacanthus</i>	<i>calyculatus</i>	<i>Juglans</i> sp	Junto arroyos, pueblos.
<i>Psittacanthus</i>	<i>calyculatus</i>	<i>Nicotiana glauca</i>	Vegetación secundaria, junto al camino.
<i>Psittacanthus</i>	<i>calyculatus</i>	<i>Prosopis laevigata</i>	Zona de cultivo de frijol y maíz; zona urbana

Tabla 2. *Psittacanthus. Calyculatus. Hábitat y sus hospederos. (Datos obtenidos en la tesis titulada “Un minifundio, alternativa de sustentabilidad”)*

2.5.2.2.- Distribución geográfica.

El *P. calyculatus* crece de manera abundante en las regiones de la Sierra Hidalguense, y las colindancias del estado de Hidalgo con Veracruz y Puebla, sin embargo tiene una distribución a lo largo y ancho del estado, así como dentro del país.

2.5.2.3.- Estudios de tipo etnobotánico.

El *P. calyculatus* es una especie con un largo historial de utilización dentro de la medicina tradicional mexicana, la mención más remota que se conoce de la planta se encuentra en el Códice Badiano, incluso se hace mención de la especie en cartas dirigidas a España por los conquistadores en las mismas, describen a detalle las características de la planta incluyendo una ilustración, así como también detallan los usos que le daban los indígenas, entre los que destacan sus usos como cicatrizador, antibiótico, epilepsia entre otros, en la actualidad habitantes de las zonas indígenas en Hidalgo, le atribuyen efectos anticonceptivos a *Psittacanthus calyculatus*, comúnmente conocida como injerto, estiman, que ingiriendo té elaborado a partir de la planta, limitan así la presentación de embarazos no deseados, dicha

característica etnobotánica ha sido documentada por investigadores como Villavicencio y colaboradores, quienes mediante el uso de encuestas de opinión, han recabado información acerca de la una creencia popular que consiste en que, usando la planta a dosis altas puede causar esterilidad^(5, 70, 73) de acuerdo con los datos obtenidos por sus investigaciones, en la flora de Hidalgo, es la única planta a la que se le atribuyen propiedades anticonceptivas dentro de los usos empíricos, por otra parte, en otros países, es una planta usada como remedio a diferentes enfermedades, por ejemplo en la Guyana francesa se usa contra la malaria,⁽⁷⁴⁾ se encuentra en distintas bases de datos como planta medicinal, en las que se describe que es usada de manera empírica.⁽⁷⁵⁾

2.5.2.4.- Estudios fitoquímicos.

En la investigación realizada por Sánchez y colaboradores titulada: Características morfo-anatómicas de los metabolitos secundarios de *Psittacanthus calyculatus* (*Loranthaceae*), implementan una metodología para la extracción y caracterización de metabolitos presentes en la hierba con especial énfasis en los metabolitos que pueden tener interés para la medicina como lo son alcaloides, antraquinonas, flavonoides, esteroides, saponinas y triterpenos, en su ensayo fitoquímico utilizaron una adaptación de la metodología de Web, y confirmaron el desenlace de su proyecto mediante una técnica por cromatografía y resonancia nuclear.⁽⁷⁶⁾

2.5.2.5.- Estudios farmacológicos.

El efecto vasorelajante del extracto acuoso fue una investigación realizada en la Universidad de Querétaro, por Beltran Martinez y colaboradores, en este diseño experimental, discuten las consecuencias ante la exposición del extracto etanólico y el tejido circulatorio del corazón *in vivo* de ratas, en su estudio concluyen, que el producto de la disminución de la tensión arterial sistémica, es resultado de la vasorelajación de los vasos sanguíneos, de este proceder, rescatan argumentos teóricos que sustentan el uso empírico de la especie como antihipertensivo, como parte de las recomendaciones en su ensayo los autores proponen la utilización del extracto acuoso dado que reconocen que, esta es la manera en la que se utiliza por la población.⁽⁷⁷⁾

Rodríguez, Arreola y colaboradores, trabajan una línea de investigación denominada como "Mecanismo de acción del efecto vasorelajante de *Psittacanthus calyculatus*" en éste trabajo, se dispusieron encontrar el mecanismo de acción del efecto vasomotor de la especie,

realizaron una experimentación con extractos acuosos y etanólicos, concluyeron que el mecanismo de acción se debía a la acción vasorelajante de óxido nitroso en los vasos sanguíneos por la vía de activación óxido nítrico/GMP cíclico. (Rodríguez y Arreola 2003) ⁽⁷⁸⁾

Deza y colaboradores, investigadores de la Universidad de Querétaro, continúan con la línea de investigación del efecto vasorelajante de la hierba, un aporte importante que da fruto de su investigación es la identificación de metabolitos activos con interés médico por medio de un método espectroscópicos y ayuda de cromatografía de líquidos de alta resolución, se ensayaron fracciones de la especie vegetal obtenidas mediante la extracción acuosa, metanólica y etérea obtenidas todas a temperatura ambiente, se develó la identidad de flavonoides, quercetina y miricetina, ácido protocatecuico. ⁽⁷⁹⁾

Martínez y colaboradores, realizan un diseño experimental para comprobar la actividad hipoglucemiante de los extractos percolados hexánico, metanólico, y diclorometano, de *P calyculatus*, en su investigación se valieron de la participación de ratas de la cepa Wistar, diabéticas, comprobaron la actividad antidiabética con dosis agudas y en fase crónica. ⁽⁸⁰⁾

Aislamiento de un ciclobutano altamente oxigenado en *Psittacanthus calyculatus*. Castañeda y colaboradores, buscaron la presencia de metabolitos con actividad antioxidante, mediante métodos espectroscópicos, caracterizaron un alfa aminoácido a partir del extracto acuoso, encontraron otros metabolitos de características antioxidantes importantes aún no caracterizados, sin embargo dado que estos metabolitos son poco estudiados y son raros de encontrar y existe poca información sobre su actividad biológica, aunque es bien reconocido su valor terapéutico lo cual implica la necesidad de estudios encaminados tanto a caracterizar e identificar moléculas presentes y realizar un perfil terapéutico y su potencial uso en la medicina tradicional. ⁽⁸¹⁾

Es importante resaltar que hasta el momento no se cuentan con diseños experimentales que hayan tenido por objetivo, comprobar cual es la toxicidad de *P calyculatus*, o bien mediante el desarrollo de un modelo experimental comprobar su eficacia como anticonceptivo en un modelo *in vivo*.

III.-HIPÓTESIS

La medicina tradicional del Estado de Hidalgo sugiere que *Psittacanthus calyculatus* (*injerto*) muestra efectos anticonceptivos femeninos, por lo tanto, al ser administrada en ratones hembra, si disminuye el número de fetos e implantaciones, entonces podría presentar este efecto anticonceptivo. ⁽⁵⁾

IV.-JUSTIFICACIÓN

Se estima que alrededor de 120 millones de mujeres en el mundo no desean embarazarse pero no usan ningún método anticonceptivo, adicionalmente se podrían evitar unas 600 000 defunciones de mujeres por razones relacionadas o que derivan de un embarazo no deseado, si se contara con los insumos para controlar la concepción. ⁽¹³⁾ Es un hecho que la salud reproductiva está relacionada directamente con la calidad de vida de las personas. Pese al esfuerzo de las instituciones de salud no se ha logrado hacer llegar la salud reproductiva a todas las regiones del país ⁽¹⁾

En Hidalgo el 34% de la población no cuenta con servicios de salud, incluyendo salud reproductiva pero cuenta con una gran variedad de plantas medicinales (2746 especies) a las cuales se les atribuye propiedades anticonceptivas; el *Psittacanthus calyculatus* es una planta usada ampliamente como anticonceptivo en la Sierra hidalguense como método de planificación familiar, y tan es así, que apoyados en estudios de opinión y bibliográficos se encontró que se le confiere una gran eficacia para tales fines. ⁽⁵⁾

El uso racional de *Psittacanthus calyculatus* como anticonceptivo, en regiones donde existe necesidad de medios para el control de la natalidad eficaces, asequibles, y fáciles de usar, complementarían las políticas de salud reproductiva vigentes y proporcionarían una alternativa más para el control natal; el bajo costo y accesibilidad brindarían a la población un recurso eficiente, que permitiría un mejor desarrollo de la población rural que no cuente con otro insumo para planear la llegada y número de cada miembro de su familia, permitiendo mejorar así sus condiciones de vida, una vez que se hayan estudiado detenidamente la toxicidad y Reacciones Adversas de la planta.

V.-OBJETIVOS

5.1.-OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto anticonceptivo de *Psittacanthus calyculatus* en un modelo *in vivo* de ratones hembras CD1.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la especie *Psittacanthus calyculatus* (injerto) mediante la caracterización botánica y fitoquímica
- Implementar un modelo para la evaluación de la actividad anticonceptiva de *P. calyculatus* en ratones hembra de la capa CD-1.
- Identificar el posible efecto anticonceptivo *del extracto de Psittacanthus calyculatus*, tras su administración crónica y *ad libitum* en ratones hembras de la cepa CD1, tomando como un indicativo directo del mismo, la presencia o ausencia de productos *in útero*.
- Identificar el posible efecto anticonceptivo *del extracto de Psittacanthus calyculatus*, tras su administración crónica, y *ad libitum*, en ratones hembras de la cepa CD1 a través de un posible efecto de resorción post implante, tomando como un indicativo directo del mismo la presencia o ausencia de implantaciones *in útero*.

VI.-MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1.- METODOLOGIA. (Para la identificación botánica y fitoquímica de *P. calyculatus*)

6.1.1.-MATERIAL BOTÁNICO.

- *Psittacanthus calyculatus* fue adquirida, completa (tallo, hojas, flores, fruto) y fresca en el Mercado de Sonora ubicado en la Ciudad de México. Se trasladó para su identificación al Instituto de Biología de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicado en la Ciudad de Pachuca Hidalgo.

6.1.2.- FITOQUÍMICA PRELIMINAR.

Se realizó la fitoquímica preliminar, de *Psittacanthus calyculatus* previa identificación del espécimen por el Instituto de Biología de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicado en la Ciudad de Pachuca Hidalgo, bajo la supervisión del Dr. Miguel Ángel Villavicencio Nieto. Dicha fitoquímica se realizó de acuerdo con lo descrito por Miranda y Cuellar y Águila Gil Fernández y Quiroz. ⁽⁸¹⁻⁸⁵⁾

6.1.2.1-PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS.

- La planta fue separada por ramas, mismas que fueron medidas y pesadas para disponerse a ser secadas a temperatura ambiente (20C^o-27C^o), las cuales posteriormente se sometieron a proceso de trituración, en la trituradora marca tororey y pulverizadas en un mortero con pistilo de porcelana. Se pesaron en una balanza analítica tres porciones de 10 g cada una, finalmente se colocan en recipientes de vidrio con tapadera y cubiertos con papel aluminio con los disolventes agua, éter y alcohol respectivamente en cada recipiente. ^(79,80) dejándola reposar por un periodo de 48 horas.

6.1.2.2-ELABORACIÓN DE LOS REACTIVOS:

Solución Reactiva de Dragendorff:

- ⌘ Se mezclaron 2 g. de subnitrito de bismuto, 25 mL. de ácido acético glacial y 100 mL. de agua (solución a). Se disolvieron 40 g. de yoduro de potasio en 100 mL. de agua (solución b). Al momento de usarse, se mezclaron 10 mL. de la solución (a), 10 mL. de la solución (b), 20 mL. de ácido acético y 100 mL. de agua.

Solución de ácido clorhídrico al 1 %:

- Se mezclaron 3.65 mL. de ácido clorhídrico concentrado en 50 mL. de agua destilada, se aforaron a 100 mL.

Solución Reactiva de Mayer:

- ⌘ Se disolvieron 1.36 g de cloruro mercúrico en 60 mL. de agua destilada, se adicionaron a una solución preparada de 5 g de yoduro de potasio en 10 mL. de agua. Se aforaron a 100 mL. con agua destilada.

Solución Reactiva de Wagner:

- ⌘ Se disolvieron 1.27 g de yodo y 2 g de yoduro de potasio en 5 mL. de agua y se aforó a 100 mL. con agua.

Solución de ácido tricloroacético al 90% en agua:

- ⌘ Se disolvieron 90 g. de ácido tricloroacético en 80 mL. de agua destilada, y aforaron a 100 mL.

Solución Reactiva de Baljet:

- ⌘ Solución A: Se solubilizó 1 g. de ácido pícrico (2, 4, 5-trinitrofenol) en 100 mL. de etanol.
- ⌘ Solución B: Se solubilizó 10 g. de hidróxido de sodio en 100 mL. de agua destilada.

Reactivo de Erlich:

- ⌘ Se solubilizó 5 g. de p-dimetilaminobenzaldehído en 10 mL. de etanol y aforar a 100 mL.

Solución Reactiva de Fehling:

- ⌘ Solución A: Se solubilizó 3.5 g de sulfato de cobre pentahidratado y aforar a 50 mL. con agua destilada.
- ⌘ Solución B: Se solubilizó 17.5 g de tartrato de sodio y potasio y 5 g hidróxido de sodio en agua y se aforaron a 50 mL.

Solución Reactiva de Benedict:

- ⌘ Se pesaron 17.3 g de citrato de sodio y 10 g. de carbonato de sodio anhidro, se disolvieron estos reactivos en 60 mL. de agua destilada. Enseguida, se adicionó lentamente y agitando 1.73 g de sulfato de cobre pentahidratado disuelto en 15 mL. de agua destilada. Se aforaron a 100 mL.

Solución Salina Fisiológica: Cloruro de sodio al 0.9 % en agua.

Solución de Hidróxido de sodio al 5 %: Se disolvieron 5 g. de hidróxido de sodio en agua destilada y se aforaron a 100 mL.

Solución de Hidróxido de potasio al 5 %:

- ⌘ Se disolvieron 5 g. de hidróxido de potasio en 25 mL. de agua destilada y se aforaron a 100 mL.

Solución de Hidróxido de Amonio al 5 %:

Se disolvieron 5 g. de Hidróxido de amonio en 50 mL. de agua destilada y se aforaron a 100 mL.

Solución de cloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica:

- ⌘ Se solubilizaron 5 g. de cloruro férrico en solución salina fisiológica y se aforaron a 100 mL.

Solución de nitroprusiato de sodio al 5 % en agua:

- ⌘ Se disolvieron 5 g. de nitroprusiato de sodio en agua destilada y se aforaron a 100 mL.

Solución al 2 % en agua destilada de Ninhidrina:

- ⌘ Se disolvieron 2 g. de Ninhidrina en agua destilada y se aforaron a 100 mL.

Solución de alfa- naftol al 5 % en etanol:

- ⌘ se disolvieron 5 g. de alfa- naftol en etanol y se aforaron a 100 mL.

Solución Reactiva de Kedde:

- ⌘ Solución 1: ácido 3, 5-dinitrobenzoico al 2 % en metanol.
- ⌘ Solución 2: Hidróxido de potasio al 5.7 % en agua.

- 6.1.2.3.- PRUEBAS FITOQUÍMICAS.

Ensayo de Dragendorff:

- ⌘ Las alícuotas de solvente orgánico se evaporaron en baño maría de agua y el residuo se disolvió en 1 mL. de ácido clorhídrico 1% en agua, se mezclaron con 3 gotas del reactivo.

- ⌘ Al extracto acuoso, se le añadió una gota de ácido clorhídrico concentrado, y se procedió de la misma forma.

Ensayo de Mayer:

- Se Procedió de la forma descrita anteriormente hasta obtener la solución ácida. Se añadió una pizca de Cloruro de sodio en polvo, se agite y filtró. Se Añadieron 2 ó 3 gotas del reactivo.

Ensayo de Wagner:

Al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma.

Ensayo de Lieberman-Burchard:

- Sí la alícuota que no se encontró en cloroformo se evaporó el solvente en baño María de agua y el residuo se redisolvió en 1 mL. HCCl_3 , al que se le adicionó 1 mL. de anhídrido acético y se mezcló. Por la pared del tubo de ensayo se dejaron correr 2 –3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), sin agitar.

Ensayo de Solkowski:

- 1 mL. de la fracción disuelta en HCCl_3 se colocó en un tubo de ensayo con 1 mL. de H_2SO_4 concentrado.

Ensayo de Rosemheim:

- 1 mL. de la fracción en cloroformo se mezcla con 1 mL. de la solución de ácido tricloroacético al 90% en agua en un tubo de ensayo.

Ensayo de Borntrager:

- En una alícuota disuelta en cloroformo.
- Se agitó con 1 mL. de solución de hidróxido de sodio (NaOH), potasio o amonio (KOH ó NH_4OH) al 5 % en agua, mezclando las fases y se dejó en reposo hasta separación.

Ensayo de Baljet:

- La alícuota redisuelta en alcohol.
- En estas condiciones se adicionó 1 mL. del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración (++) o precipitado rojo (+++), respectivamente.

Ensayo de Legal:

- A una solución del extracto disuelto en alcohol etílico se le añadió 2 gotas de una

solución recientemente preparada de nitroprusiato de sodio al 5 % en agua y a continuación 1-3 gotas de solución de NaOH 2 M.

Ensayo de Erlich:

- Se colocó una pequeña gota del extracto (con Pipeta Pasteur) en una placa con muesca, se añadió dos gotas del reactivo y 1 gota de ácido clorhídrico concentrado.

6.1.2.3.1- Ensayo de resinas:

- Para detectar este tipo de compuesto se adicionó a 2 mL. de la solución alcohólica 10 mL. de agua destilada.
- La aparición de un precipitado indicó un ensayo positivo.

Ensayo de Fehling:

- Se redisolvieron las alícuotas en 1-2 mL. de agua, y se adicionan 2 mL. del reactivo, se calentó la mezcla en baño de agua durante 10-30 minutos.

Ensayo de Benedict:

- El residuo se disolvió 1-2 mL. de agua en caso que la fracción no haya sido acuosa y se adicionó 1 mL. del reactivo, se calentó la mezcla en baño de agua durante 10-30 minutos.

6.1.2.3.2.-Identificación de Fenoles y taninos.

Ensayo de cloruro férrico:

- A la fracción disuelta en 1 mL. de etanol se le añadió 0.5 mL. (ó 3 gotas) de una solución de cloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica.

Ensayo de Ninhidrina:

- Se tomó una alícuota del extracto en alcohol, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, este se evaporó a sequedad; en ambos casos se mezclaron con 2 mL. de solución al 2 % en agua ó 0.2 % en alcohol de ninhidrina.
- La mezcla se calentó de 10 minutos en baño de agua.

Ensayo con ácido sulfúrico concentrado:

- 1 mL. del extracto se concentró a seco en tubos de ensayo y se agregaron unas gotas de H₂SO₄ concentrado.

Ensayo de Shinoda:

- Una alícuota del extracto en alcohol o 2 mL. de la fracción acuosa o el residuo disuelto en 2 mL. de agua se le adicionaron 1 mL. de HCl concentrado y un pedacito de magnesio metálico o zinc.

- Cuando la reacción termina se añade 1 mL. ó 2 mL. de alcohol amílico y se agitó.

Ensayo de Rosemheim: Permite reconocer en un extracto la presencia de leucoantocianidinas y antocianidinas.

- 1 mL. del extracto en etanol se calentó 10 minutos con 1 mL. de HCl concentrado. Se dejó enfriar y se añadió 1 mL. de agua y se agitó con 2 mL. de alcohol amílico. Se dejaron separar las dos fases.

6.1.2.3.3.- Ensayo de la espuma: Permite conocer la presencia de saponinas tanto de tipo esteroideal como triterpénicas.

- De modo que sí la alícuota se encuentra en alcohol, se diluyó con 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 10 minutos, dejándose en reposo.

6.1.2.3.4.- Ensayo de mucílagos: Permite reconocer en un extracto la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua cuando se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría de 0 °C.

Ensayo de Kedde:

- La fracción se disolvió en 1 mL. de etanol, se mezcló con 1 mL. del reactivo y dejó reposar durante 10 minutos.

6.1.2.3.5.- Identificación de poliurónidos.

- Ensayo: A 2 mL. del extracto se le adicionaron 10 mL. de alcohol.

6.2.- IMPLEMENTACIÓN DEL DISEÑO METODOLÓGICO PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTICONCEPTIVO DE P. CALYCVLATUS

6.2.1.- MANEJO DEL MATERIAL BIOLÓGICO

El manejo y transporte de los animales de experimentación se realizó según lo establecido en el manual de Bioterio referente al manejo y uso de animales de laboratorio. Se formaron dos lotes al azar de 23 ratones hembras cada uno, de la cepa CD-1 con un promedio en peso de 27g, y un lote 24 ratones macho sobre ese mismo peso. Los animales fueron sometidos a un periodo de adaptación (15 días), con las finalidades de que se integraran a su nuevo entorno, se estabilizaran constantes fisiológicas, se disminuyera a un punto mínimo el grado stress ocasionado por el manejo, para evitar variaciones en los resultados.

Se administró agua de manera *ad libitum*, así como alimento en pellets (28 % de proteína) de marca PURINA. ^{MR (86)}

6.2.2.-IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO PARA DETERMINAR EL EFECTO

ANTICONCEPTIVO (APAREAMIENTO):

El apareamiento de los animales de experimentación se llevó a cabo tomando como base un estudio realizado por González J, Benavides V. Rojas R. Pino J., en ratones albinos, en el cual se mantuvieron en apareamiento, hembras y machos durante una noche, con control del ciclo luz-oscuridad. Cabe mencionar que las hembras que fueron apareadas se les administraron crónicamente *ad libitum* la decocción de *P. calyculatus* o el vehículo, como se describe más adelante en la sección 6.2.3. Una vez completado el tratamiento los animales de ambos lotes se aparearon en relación 2:1 (dos hembras por cada macho). La duración del apareamiento fue de 1 noche; cada mañana se revisaron y separaron las hembras en busca de tapón vaginal, lo cual era considerado como indicativo de gestación, registrando la fecha de la copula y considerándose como el día uno de gestación. Las hembras que no resultaron gestantes se mantuvieron en apareamiento durante 4 días más, después de este tiempo, las hembras en las no se obtuvo tapón vaginal, fueron eliminadas del estudio de acuerdo a los criterios de eliminación. ⁽⁸⁶⁾ Los animales se sacrificaron el día 18 de gestación, siguiendo las normas de ética de acuerdo a lo que dicta la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Se realizó el conteo de productos e implantaciones *in utero* como se describe más adelante en el apartado 6.2.4

6.2.3.- DETERMINACION DE LA DOSIS DEL EXTRACTO PARA ADMINISTRACIÓN Y TRATAMIENTO

Partiendo del hecho de que una mujer de 60 Kg. de peso aproximadamente ⁽⁸⁷⁾, utiliza la planta (hojas, tallos, flores y fruto) denominada injerto en decocción a razón de 10.3 g en 250 mL., en base a esto se calculó la dosis para los roedores considerando que su peso promedio es de 40 gramos, se necesitan 0.006825g para preparar 250 mL. La transpolación de la dosis se tomó como referencia el estudio realizado por Hunter y colaboradores, investigadores de la Universidad de Bogotá Colombia, en él describen su diseño que explica la estandarización del peso promedio de una mujer en edad fértil, así como también el cálculo de la dosis equiparable entre humanos y roedores, en específico ratones de la cepa CD-1, manteniendo de esta manera la relación de consumo por un humano. El consumo de té por un roedor durante un lapso de 24 horas es 7 mL., lo cual fue verificado en un estudio previo. La decocción fue elaborada mediante la ebullición de agua destilada con el material vegetal, previamente pesado y triturado, éste se mantiene hirviendo durante un periodo de 15 minutos de acuerdo a la técnica descrita en la Farmacopea Herbolaria de Los Estados Unidos Mexicanos, y se administró diariamente por un periodo de 2 semanas, como agua de uso al lote experimental, al realizar el recambio de la decocción de los bebederos, se cotejó la cantidad recogida contra la alícuota inicialmente administrada en las mamilas, de esta forma se corrobora el consumo de la decocción en el lote tratado, la ingesta del tratamiento por dos ciclos estrales, obedece a varias circunstancias que pueden variar de manera importante el desarrollo del estudio, por una parte la Asociación Farmacéutica Americana⁽⁸⁸⁾, recomienda que cuando el tratamiento anticonceptivo no se inicia en el día uno del ciclo estral, se puede experimentar falla terapéutica si se desarrolla una cópula en los días siguientes, el periodo de estro de un ratón Joven puede variar entre 5-9 días de acuerdo a las condiciones en las que se desarrolle, en el sentido estricto se refiere a condiciones tales como el ciclo de día-noche automatizado, las condiciones de temperatura, humedad y lo más relevante de todo la exposición visual con el macho, estas características hacen difícil de sincronizar los estros de los ratones del estudio motivo por el cual se aumenta la cronicidad de la dosis, Weniger y colaboradores, sugieren que algunos tratamientos anticonceptivos a partir de plantas medicinales pueden alargar el ciclo estral, y esto es una razón más para considerar la realización de un tratamiento crónico. Para descartar la participación del

vehículo en los resultados observados, al grupo control solo le fue administrado el vehículo (agua *ad libitum*) hasta la conclusión del estudio, el agua consumida por el grupo control, también fue medida y recambiada de forma diaria a razón de mantener en igualdad de condiciones a los dos grupos que participaron en el estudio. ⁽⁸⁹⁾

6.2.4.-EXTRACCIÓN DEL ÚTERO, CONTEO DE LAS IMPLANTACIONES Y CRÍAS:

Se realizó una disección por línea alba con la finalidad de exponer y extraer el útero. Se observó la presencia, apariencia, viabilidad y posición de los productos de gestación (fetos). Posteriormente se procedió a desprender individualmente cada una de las placentas adheridas al endometrio, y se cortaron cordones umbilicales. Cada una de las placentas fue desalojada de su producto y se observaron y anotaron los cambios encontrados. El útero se colocó en una solución de sulfuro de amonio al 10 % y se reposó por 10 minutos, con la finalidad de evidenciar la presencia de implantaciones en firme e implantaciones no logradas (reabsorciones), no perceptibles a simple vista.

6.2.5.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA COMPROBAR EL EFECTO ANTICONCEPTIVO DE. *P. calyculatus*

Los datos fueron analizados mediante la prueba paramétrica "T de *student*" del paquete estadístico *sigma stat*.

VII.-RESULTADOS

La identificación botánica de *Psittacanthus calyculatus* fue realizada por el titular del área de etnobotánica en el Instituto de Ciencias Biológicas, en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Dr. Miguel Ángel Villavicencio Nieto, quien identificó el espécimen de manera positiva como una planta que pertenece a la familia *Loranthaceae*, al género *Psittacanthus* y especie *calyculatus*. Del mismo modo, calificó al ejemplar analizado, como una muestra completa con todas sus partes, dado que en el se podían apreciar, tallo, flores, fruto, y hojas lo que facilitó la caracterización.

7.1 Resultados del tamizaje fitoquímico.

El tamizaje fitoquímico se realizó de acuerdo con lo descrito en la metodología, los resultados de los ensayos llevados a cabo, se listan en la tabla 3.

Ensayo	Extracto Acuoso	Extracto Etéreo	Extracto Alcohólico
E. Baljet cumarinas	-	-	+++
E. Legal para lactonas y sesquiterpénicos. cumarinas	-	-	+
E. de Elrich. Cumarinas	-	-	-
E. de resinas.	-	-	-
E. de Fehling y azúcares reductores.	+++	-	-
E. de Benedict. de azúcares reductores.	-	-	-
E. de Dragendorff alcaloides	++	-	-

Ensayo	Extracto Acuoso	Extracto Etéreo	Extracto Alcohólico
E. de Mayers alcaloides.	++	-	-
E. de Wagner. alcaloides	++	-	-
E. Liebermann-Buchard triterpenos y esteroides.	-	-	-
E. de Salkowski. esteroides	-	+	-
E. de Rosenheim. esteroides, Flavonoides	+	-	-
E. de Borntrager. quinonas	-	-	++
E. de cloruro férrico. Fenoles y taninos	-	-	+
E. de Ninhidrina. Aminoácidos libres y aminas en general	-	-	-
E. de ácido sulfúrico. Flavonoides	-	+++	+++
E. de Shinoda flavonoides.	+	-	-
E. de Kedde Glicósidos cardíacos	-	-	-
E. de espuma saponinas	-	-	-
E. de mucílagos	-	-	-
E. de Poliuránidos	+	-	-

Tabla 3. Resultados del tamizaje fitoquímico preliminar

Tal como se puede apreciar en la tabla de tamizaje fitoquímico, hubo presencia de cumarinas, alcaloides, esteroides, flavonoides, quinonas, fenoles y taninos, sin embargo no se detectaron moléculas pertenecientes a los grupos de azúcares reductores, aminoácidos, glicósidos cardíacos, saponinas, mucílagos, poliuránidos.

7.2 Diseño experimental: Administración de tratamiento, y fase de apareamiento.

En lo que respecta a la administración del tratamiento, este se implemento en el lote experimental, durante un periodo de tiempo correspondiente a dos estros tal y como lo especifica la metodología. La ingesta del tratamiento fue confirmada por medición volumétrica diaria del contenido de los bebederos. Los resultados de la ingesta diaria se muestran en la tabla 4 en el que se observa que la cantidad de agua y decocción ingerida por el lote respectivo realmente tiene una diferencia mínima entre un valor y el otro.

Día	Ingesta control/ individuo/24 hrs.	Ingesta tratamiento/individuo/24hrs.
1	6.4 mL	6.18 mL
2	6 mL.	6.27 mL.
3	6.2 mL	6.34 mL.
4	5.54 mL	5.36 mL.
5	6.54 mL	5.54 mL.
6	5.6 mL.	6.3 mL.
7	5 mL.	5.9 mL.
8	5.9 mL.	7.9 mL.
9	6.4 mL.	7.8 mL.
10	6.2 mL.	6.45 mL.
11	6.1 mL.	5.3 mL.
12	6.27 mL.	5.77 mL.
13	6.45 mL.	5.86 mL.
14	6.68 mL.	6.36 mL.
15	6.9 mL.	6 mL.

Tabla 4.- administración de la decocción al grupo tratamiento y vehículo al grupo control.

7.3 Conteo de número de fetos y conteo de implantaciones en el útero de los ratones hembra de lotes tratamiento y control y análisis de los hallazgos en el paquete *Sigma stat*.

Posteriormente, una vez completada la fase de apareamiento se lograron conformar 2 lotes de 11 hembras gestantes cada uno. Los animales eliminados del estudio fueron 11, al no encontrarse hallazgos de cópula en los mismos. El día 18 de la gestación, esta fue interrumpida, y se procedió a la disección de los úteros grávidos para llevar a cabo el registro del número de productos presentes en ellos. En el grupo control se observó una media menor en el número de fetos encontrados (11) con respecto a la media del grupo experimental (13) (tabla 4).

No. de individuo	No. de productos	No. de individuo	No. de productos
Control		Tratamiento	
1	11	1	14
2	12	2	14
3	12	3	14
4	13	4	19
5	11	5	11
6	12	6	13
7	6	7	12
8	9	8	10
9	14	9	14
10	9	10	13
11	12	11	12

Tabla.5. Número se productos in utero, en el grupo experimental y control.

Después del registro fetal, el tejido uterino se tiñó con la solución de sulfuro de amonio al 10 % y se dejó reposar durante 10 minutos, tiempo tras el cual fue posible observar la presencia total de las zonas de implantación, incluso aquellas no observadas a simple vista (reabsorciones) (Tabla 5). Se pudo observar que la media en el número de implantaciones en el grupo experimental (15) con respecto al grupo control (15.6) no difiere mucho entre ambos grupos.

No. de individuo	No. de implantaciones	No. de individuo	No. de implantaciones
Control		Tratamiento	
1	12	1	16
2	21	2	14
3	17	3	14
4	15	4	28
5	14	5	13
6	17	6	14
7	14	7	16
8	11	8	13
9	16	9	14
10	12	10	15
11	16	11	12

Tabla 6. Número de implantaciones in utero, en el grupo experimental y control.

El número de fetos encontrados tras la administración del tratamiento en el grupo experimental muestra claramente un mayor número de ellos en comparación con el grupo control, como se puede observar en la grafica 2. Por otra parte, tras realizar el Análisis estadístico, se pudo observar que existe diferencia estadística significativa del grupo experimental con respecto al control.

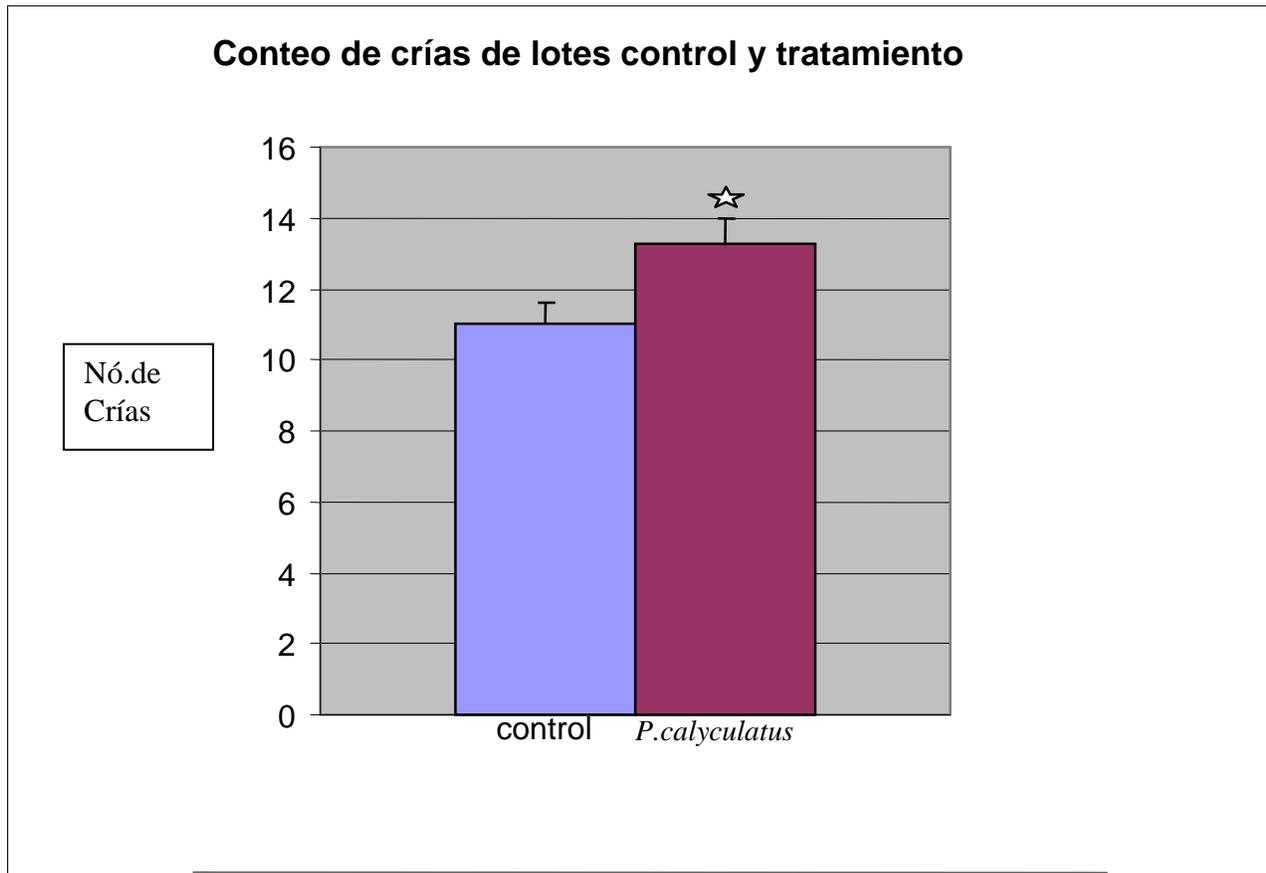


Figura 3. Número de fetos implantados *in utero* en ausencia y presencia de *Psittacanthus calyculatus* (injerto). Cada una de las barra representa la media \pm el error estándar de 11 experimentos, $P= 0.03$.

El número de implantaciones encontradas *in utero* en el grupo experimental muestra un comportamiento muy similar al del grupo control, con una diferencia mínima entre ellos; y el análisis estadístico mostró que no existe diferencia significativa entre el grupo experimental y el grupo control, ($P= 0.821$), tal y como se puede observar en la gráfica 3.

Promedio de número de implantaciones control y tratamiento

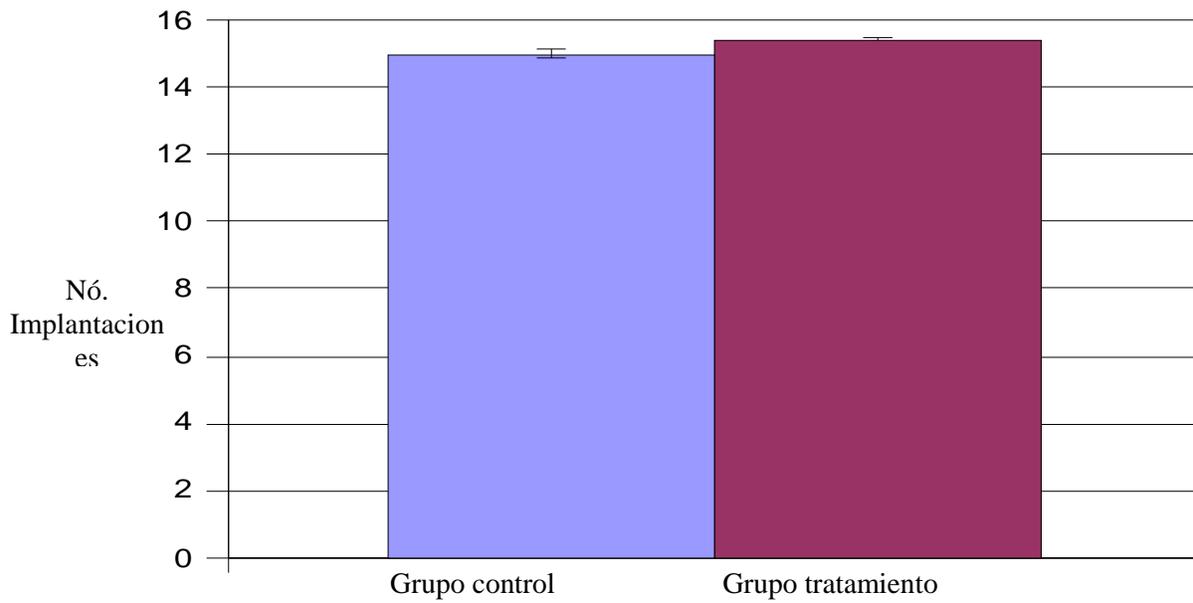


Figura 4.- Número de implantaciones in utero en ausencia y presencia de *Psittacanthus calyculatus* (injerto). Cada una de las barra representa la media \pm el error estándar de 11 experimentos, $P= 0.821$.

IX.-DISCUSIÓN

Las propiedades curativas atribuibles a las plantas pertenecientes a la familia *Loranthaceae*, (muérdagos ó injertos) se heredaron gracias al muérdago Europeo (*Viscum album*), este último comparte características taxonómicas similares con el muérdago americano (*Loranthaceae*), los usos eran principalmente para tratar la epilepsia y debilidad, de tal suerte, que para cualquier estudio realizado en plantas medicinales, para que tenga validez debe realizarse de manera previa, la identificación de la especie en estudio, en el presente trabajo la identificación fue positiva para la especie que se está investigando, *P. calyculatus*. Actualmente los muérdagos americanos se han usado de manera empírica para tratar diferentes enfermedades, y dado que se reconoce su utilidad desde hace varios siglos, muchos investigadores han profundizado en la búsqueda de los posibles metabolitos activos responsables de la actividad biológica atribuible a estos ejemplares: Ejemplo de ello son las investigaciones de Benigni y colaboradores, quienes han encontrado concentraciones de tiramina, aminas que se relacionan con efectos en el sistema circulatorio, asimismo, han encontrado flavonoides que se relacionan con la biotransformación hacia progesterona, los resultados obtenidos tras la realización del análisis fitoquímico al igual que las investigaciones elaboradas por Benigni, Arreola Sánchez y colaboradores, como se muestra en el cuadro de resultados para las pruebas de tamizaje fitoquímico, se comprueba la existencia de alcaloides, esteroides y flavonoides, estos son compuestos que pueden intervenir con el proceso de la reproducción, en especial los flavonoides, con los que se tiene amplia experiencia en la obtención de productos con actividad progestágena. ^(76, 90)

Estudios publicados por Arreola Sánchez y colaboradores en especies de la familia *Loranthaceae* demuestran la presencia de cumarinas, alcaloides, azúcares reductores y flavonoides mediante la realización fitoquímica preliminar en extractos metabólico, etanólico, acuoso, etéreo y utilizaron otros métodos de identificación cualitativa tales como la cromatografía. ⁽⁷⁶⁾

El hallazgo de la fitoquímica preliminar de este trabajo, en base a la metodología citada por Miranda y Cuellar, comprende el uso de tres disolventes: Agua, alcohol y éter, en los ensayos realizados por Arreola y colaboradores, encuentran algunos metabolitos de interés para línea de investigación endotelial con la especie botánica, del mismo modo lo hicieron,

Benigni, Sánchez y Deza cada uno con sus colaboradores, sin embargo la utilización de los solventes designados para la caracterización fitoquímica para esta tesis tiene el interés principal de metabolitos que pueden llegar a tener efectos posibles en el aparato femenino, tales como los alcaloides, o flavonoides, que se ha descrito por otros investigadores son los responsable de la actividad anticonceptiva de muchas plantas medicinales administradas con estos fines terapéuticos, se debe agregar que se rehusó la aplicación del método de Webb para la caracterización de los metabolitos secundarios dado que mediante la recopilación bibliográfica ya se disponía del conocimiento de la existencia de esos metabolitos activos presentes en *P. calyculatus*, de tal modo que la inclusión de la caracterización de estos metabolitos añade datos relevantes ante la información de la que se puede disponer acerca de la hierba. ^(76,79)

Bajo las condiciones del presente trabajo no se encontraron efectos anticonceptivos atribuibles a *Psittacanthus calyculatus* (injerto), posiblemente presenta cierta actividad progestágena, incrementando la viabilidad y el número de fetos al menos en modelos murinos. La investigación de Castro H. y colaboradores, ⁽⁹¹⁾ revela que la cantidad promedio de crías por camada de la cepa CD-1 es de 12 crías, en el contexto de la parte experimental de la tesis aquí descrita, en lo referente a la identificación del número de crías, en base a la comparación con los estudios desarrollados por Castro y colaboradores, las camadas del grupo tratado aparentemente el resultado se encuentra ligeramente por arriba del promedio, con mas de 13 crías por camada, en contraparte, el grupo control se encuentra por debajo del promedio normal dado que, se promediaron solo un poco más de 11 crías por camada, al relacionar estos dos resultados por medio de la prueba de T de *student*, mostró diferencia estadística significativa, es decir que existe un aumento en el número de crías para el grupo tratado en relación con el grupo control.

En función de que la cantidad de implantaciones revelada por la tinción es muy similar en ambos grupos, incluso el análisis del paquete estadístico *Sigma stat*, muestra que no existe significancia entre los valores promedio de implantaciones en los dos lotes analizados. Los datos obtenidos por parte de Jefferson y colaboradores, muestran que para la cepa de ratones CD-1 la cantidad de implantaciones promedio es de 14 por camada, resultado que fue muy similar con la cantidad de implantaciones promedio obtenidas en el ensayo elaborado por Illra y Colaboradores, en las que se considera como 15 el número de implantaciones de referencia para comparar contra su grupo tratado; asimismo, en la

identificación del número de implantaciones realizado en los grupos control y tratamiento, respaldan una vez más los datos ya obtenidos, por los grupos control de los experimentos antes mencionados. Por otra parte al analizar y correlacionar los datos obtenidos de la identificación y conteo de implantaciones de ambos grupos, no es posible determinar una diferencia significativa en esta etapa de la preñez, toda vez que los datos promedio de los dos grupos integran valores muy cercanos, lo que aparentemente refiere que el tratamiento administrado en la posología ya mencionada y a la dosis calculada no interfiere en esta etapa del desarrollo de reproducción. (92, 93)

Los resultados del estudio aparentemente muestran un aumento en la viabilidad de las crías, a partir de la implantación, Domaracky y colaboradores, discuten que ciertos productos naturales pueden ayudar a mejorar las condiciones del embarazo, sin embargo, mediante el análisis de los resultados que obtuvo, sugiere que un aumento en la dosis de estos productos naturales, puede cambiar los resultados, en sus trabajos expone que el uso de dosis 1000/mg./kg./día de eugenol, producen anomalías en el peso materno y desarrollo esquelético de los embriones, por otra parte menciona que el aceite esencial de canela y clavo, tiene efectos negativos, si se usa en dosis altas al momento de la implantación. Es posible que si se usaran dosis más altas de *P caliculatus*, (94) se hubieran podido observar efectos distintos a los observados mediante la metodología del presente estudio.

Un estudio elaborado en la Universidad de Querétaro por Martínez y colaboradores, se evalúa el extracto acuoso de la planta, se observaron cada uno de los cambios del tejido de animales inoculados, explica, que al utilizar el preparado acuoso tal como se usa de manera empírica, es indispensable para formar caracterizaciones farmacológicas de la planta, en ese sentido, para probar su eficacia como medio de control de la fertilidad, se administró en base a lo indicado por su toma empírica, aunque es importante resaltar que Arreola y Colaboradores, prefirieron probar con diferentes extractos, como son el metanólico, etílico y bencénico, con el propósito de observar cada cambio en el tejido al administrarse la sustancia correspondiente. (78, 83)

La investigación Venezolana (95) hacia 6 especies de plantas útiles albergadas en el Amazonas, se identificaron metabolitos activos presentes en las plantas antes citadas, dentro de las especies escogidas por su valor terapéutico, sobresale el ensayo realizado en *P. calyculatus*, este, demuestra la presencia de sustancias que se encuentran contraindicadas durante el embarazo así como alcaloides. Este hecho puede marcar la posibilidad de generar

abortos tempranos, (aunque esto último debe comprobarse) en la toma empírica; el paciente toma el extracto aún mientras mantiene relaciones con su pareja sin utilizar otro medio de control natal, esto último deja la posibilidad abierta a la planta para actuar como abortivo o anticonceptivo post-coital, esta hipótesis no quedó cubierta en el estudio aquí presente debido a que, el objetivo era reconocer su valor como herramienta en la planificación familiar, y, la legislación del estado de Hidalgo no permite la práctica del aborto como medio de control natal.

La actividad abortiva o su valor como herramienta en la medicina tradicional utilizada por parteras queda evidenciada en un experimento realizado por Oboh y Colaboradores, estos discuten las evidencias de actividad similar a la oxitocina, ambos administrados por vía intrauterina, se pudo observar y concluir, que el extracto acuoso del injerto, produce fuertes contracciones en el músculo uterino. ⁽⁹⁶⁾

X.-CONCLUSIÓN

Se identificó como *Psittacanthus calyculatus* la especie utilizada en la fase experimental de esta tesis.

En la fitoquímica preliminar se identificaron cumarinas, alcaloides, esteroides, flavonoides, quinonas, fenoles y taninos, lo cual coincide con los grupos de metabolitos encontrados en otras especies de la misma familia.

Se planteó la implementación de una metodología para evaluar la eficacia anticonceptiva del extracto empleado

En relación al grupo control el número de productos, encontrados vivos *in utero* en el grupo tratado, fue mayor estadísticamente hablando.

No se encontró diferencia en el número de implantaciones en los cuernos uterinos de ambos grupos, control y tratamiento.

Psittacanthus calyculatus administrada bajo las condiciones del presente trabajo, no presentó efecto anticonceptivo, por lo cual, no se cumplió la hipótesis propuesta, de tal suerte que no se puede manifestar de manera categórica que esta planta, no es útil en el control de la fertilidad, dado que se requieren diseños experimentales mas adecuados que permitan demostrar la eficacia y seguridad de esta especie.

XI.-RECOMENDACIONES

Para comprobar el efecto anticonceptivo sería útil tomar en cuenta las siguientes recomendaciones para futuros trabajos:

1. Administrar el tratamiento en diferentes dosis, elaborar una curva dosis-respuesta.
2. Continuar la administración del tratamiento durante cada parte de la gestación.
3. Administrar el tratamiento por diferentes vías de administración, al menos vía intra-peritoneal.
4. Realizar un dosis letal 50, de la decocción de la planta que permita identificar su toxicidad.
5. Elaborar una caracterización de los metabolitos activos de los extractos tanto acuoso, alcohólico y etéreo de la planta mediante el uso de técnicas espectroscópicas.
6. Se sugiere que una vez que se caractericen las moléculas, se determine su posible actividad anticonceptiva, mediante diseños experimentales tanto *in vivo* como *in vitro*, que los corroboren. Sería conveniente medir las concentraciones plasmáticas hormonales circulantes en los sujetos de experimentación, como parámetros de referencia, antes y después del tratamiento.

XII.-Bibliografía.

1. Juárez, F., Singh, S., García, S., Díaz, C. (2008): Estimates of induced abortion in Mexico: What's changed between 1990-2006? Rev Internacional family planning perspectivas; 34(4):158-168
2. Barber, S. (2007): Family planning advice and postpartum contraceptive use among low-income women in Mexico. Rev. Internacional family planning perspectives; 33(1):6-12
3. Population Reference Bureau Measure Communication Necesidad insatisfecha de planificación familiar enfoques recientes e implicaciones programáticas. EUA: 2009. Informes técnicos: 13-15
4. Mojarro, O. M. Mendoza, D. A, (2007): Evaluación de las políticas de anticoncepción en México y el mundo ¿Qué hemos logrado y a dónde se pretende llegar? Rev_Salud Públic_de_Méx. 49: 238-40
5. Villavicencio, M. N. Pérez B. E. Plantas útiles de México. Hidalgo, México. Ed. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Biológicas; p.46.2001
6. Blázquez, J. M. Los anticonceptivos en la antigüedad clásica, Historia y Arqueología de las civilizaciones, Taller Digital de la Universidad de Alicante Actas del Segundo Seminario de Estudios sobre la mujer en la antigüedad, Valencia España(2000): p.135-146
7. Licea, J., Arenas, M., Valles, J., (2002): La píldora anticonceptiva en América Latina y el Caribe estudio bibliométrico. Rev. Anales de documentación;5:213-222
8. Cupul, F., M. (2003): Cocodrilo medicina para el cuerpo y el alma. Rev. Biomed. Mex. 14: 45-48
9. Peña, C. J. Hernández R. D. (2007): Historia de la anticoncepción. Rev. IMSS A tu salud. 44:80-84
10. Chamizo, J. A. (2004): Apuntes sobre la historia de América Latina. Rev. Soc. Química Méx. 48:165-171

11. Atención Primaria a la Salud. (OMS) (2008): Informe sobre la salud en el mundo 2008; 30, 62, 70, 71, 75
12. WHO. (2000); Statements, Condomns should be used more often. Statements WHO, 12.1-2.
13. Population Reference Bureau. (PRB) (2005): Women of the World; 3-12
14. Population Division of the departament of economical and social affairs, of the United Nations.(2003): The world fertilty Report; 1-9.
15. Population Division of the departament of economical and social affairs, of the United Nations (2004): World fertility report: 2: 2-12
16. Ohio State University.(2007):Information family plannig perspectives;24-76
17. Schiffter Health Center (2004): Virgina tech. Contraceptive methods failure rate. Patient Information;1-4
18. Comunicado de prensa, Colombia "Tendencias en la dinámica anticonceptiva". Profamilia; 2006.
19. Uso de anticonceptivos, Encuesta Nacional de Fecundidad. Marzo 2009 [En línea] Disponible en URL: <http://WWW.inegi.gob/estadísticas/usodeanticonpectivos/todoelpais/1997>
20. School of Public Health. (1999): Achievments in public health: Family plannig in the world;2(23):23-45
21. Gonzáles, G., H., Palma, Y., Montes L. (2007): Análisis Regional de las determinantes de la fecundidad en México. Rev. Papeles de población; 51(2):213-245
22. Uso de anticonceptivos entidad federativa. Marzo 2009 [En línea] Disponible en URL: [http://WWW.inegi.gob/estadísticas/usodeanticonpectivos/entidadfederativa\\$hidalgo/1997](http://WWW.inegi.gob/estadísticas/usodeanticonpectivos/entidadfederativa$hidalgo/1997)
23. Cingolani, H., Houssay, B., Affani, J., Caldeyro, J., Aiello, E., et. al. Fisiología Humana.Editorial El Ateneo. Argentina 2000.p.707, 708,709, 710, 718, 719,720.
24. Guyton, A. Fisiología humana. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. 9a. Edición. México 2003. p. 621, 622, 625, 636, 639, 640, 641.
25. Ganong, W. Fisiología médica. Editorial Manual Moderno. Edición 20 México 2001.p. 449, 450, 451, 452,453.

26. Conferencia "Métodos anticonceptivos hormonales" Cremonte, E., A. México; 2005.
27. Moreno, I., Bilings, D., L., Unger, J., L., Cortes, M., C., Gasman, N. Z. (2003): Consentimiento Informado y anticoncepción México. Rev. IPAS. Méx. IMSS;(7):11
28. Organización Mundial de la Salud: Beneficios de la Planificación Familiar para la Salud. Planificación Familiar y Población División de Salud de la Familia (1995) WHO/FHE/FPP/95.11
29. Boletín electrónico Consejo estatal de planificación familiar Baja California México. Marzo 2009. [En línea] Disponible en URL: <http://www.Planificacion%20Familiar%20y%20La%20Calidad%20de%20Vida>
30. Mojarro, O., Mendoza, D. (1999): 25 años de planificación familiar en México. La situación demográfica de México. Rev. Secretaría de Salud: 202-212
31. Mojarro, O., Mendoza, D, (1995): Planificación Familiar la situación demográfica de México, Rev. Secretaría de Salud: 83-9
32. Informe de ejecución 2004-05 del programa nacional de población 2001-2006: Secretaría General del Consejo nacional de Población México. p 34-41
33. Gómez, D., M., Gaytan, H., G., (2004): Dispositivo Intrauterino (DIU). Revista Colombiana de Ginecología y Obstetricia; 55(4):261-266
34. Hardman, G., B., Limbird. L.D. Molinoff P.E., Ruddon R.M., Goodman.A.S.Las bases farmacológicas de la terapéutica. DF. México. Editorial Interamericana; 2000.p. 1498, 1505, 1511, 1512
35. González, I., R., Miyar, E. M. (2001): Consideraciones sobre planificación familiar: Métodos anticonceptivos. Rev. Cuban_ Med_Gen_Integr;17(4):367-78
36. Aguilar. M., T. (2005): Avances en Métodos anticonceptivos: Imagen Institucional. Rev. INPPARES (13)1-3.
37. Mondragón, C., H., Ginecología básica ilustrada, México. Ed. Trillas. p.463-466 ; 2007
38. Hammarskjold, D. O. Productos e investigaciones de anticonceptivos en desarrollo para hombres y mujeres. Population Council. Marzo 2008. [En línea] Disponible en URL: www.popcouncil.org/pdfs/factsheets/RH_ContraceptiveDev_Es.pdf.

39. Alarcón, F., C., Martínez, M., O. (1985): Operación del programa de planificación familiar en medio urbano. Rev. Planificación familiar y demografía medica IMSS; 37(4):35-51
40. Amiya, P., Hikim, S., He, Y., Wang, C., Reutracu, V., Sangsuwang, R., (2000): Postesticular antifertility action of triptolide in the male rat. Rev. Journal of Andrology;3(21):431-438
41. Leal, J., F., Vargas, F., S., Taladiz C., R. (2007): Son los anticonceptivos orales un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de mama. Rev_Chil_Obstet_Ginecol; 2(72):89-95.
42. Regulatory Issues; Drug regulation in 2006 (2006): WHO drug information; 2(20):61-68
43. Soto, G. (2003): En busca de la salud: Medicina Tradicional Prehispánica en el siglo XX. 1974-1976. Horizontes Grabanca Paulista. 117-122.
44. Organización Mundial de la Salud de la Salud. (OMS): (2000): pautas generales para la metodología de investigación y evaluación de la medicina tradicional; 14(1):23-39
45. XIII Congreso Nacional Farmacéutico. Granada 15-18(2002) Plantas medicinales, Alonso, O. J. Octubre; 2002
46. Departamento de Salud Reproductiva e Investigaciones Conexas (OMS) (2004): Programa de colaboración estratégica OMS-UNFPA. 6:12-14
47. Damasceno, D., C., Volpato, G., T., Lemonica, I., P. (2002) A review of antifertility folkloric plants tested in laboratory animals. Rev. Bras. PL.Med:5(1);19-26
48. Marcial, J., (1994): Jardín Etnobotánico de Morelos de Cuernavaca. Ciencias del Herbario: 52, 54,55.
49. Anast, J., H., Holmed (2001): Wild yam, a resource of progestagens in history; Revista Herbal lesson; 12(3): 18-21
50. Levine. H., L., (1999) The Mexican plant zoapatle (*Montanoa tomentosa*) in reproductive medicine. Past, present and future. Rev. J REPROD MED;26(10):524-8
51. Jensen, C., K., Merino, N., et al. (1998) Effects of cigarette smoking on semen characteristics of a population in Mexico. Rev_Arch_Androl;41:11-15.

52. Kholkute et.al (1997): Studies on the Anti-fertility uses of *Hibiscus rosa sinensis*; Revista Planta Médica (31):35-39
53. Joshi J., Et. Al. (1998): Antifertility effects of chronically administered *Malvaviscus konzattii*. Revista Planta Médica ;(41):274-280
54. Prakash F. Et. Al. (1998): Anti-fertility investigations on Embellin. Revista Planta Médica;(41):259-266
55. Giraldo, B., L., Hernández, M., M., Angulo P., H., Fuertes C., R.,(2003): Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* willd. d.c. (uña de gato). Rev. Publicación médica.1 (9);67-71
56. Azar, N., Khouri, K., Zeyad, K., Akawi, H.(2005) Antiandrogenic activity of *Ruta graveolens* Lin male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behavior. Rev. Neuro endocrinology letters;26(6):823-829
57. Baser., C., K., Cosar, H., M., Malyer, H., Ozek T. (1993) The esencial oil *Dictamnus albus*, *Rubís ideus* from turkey Rev. Planta médica; (33): 139-144
58. Soumy, A. Fertility conception and contraception a handbook for the muslin familiy. 4ta. ed.editorial Muslin Enland; 2003 .p. 35,80
59. Birdsey, J., (2006): What is a natural progesterona. The Worlds Best Kept Secret and its companion book;2 (12): 26-29
60. Greenworld, J., Breendler, T., Jaenicke, C., Murray, L., Ludwing, J., Et. al., PDR. For Herbal Medicines. 3ra. Edición Editorial Thompson. 2004. p. 138, 139 168, 169, 189, 190, 254, 473, 509, 510, 692,693.
61. Miller, L. Murray, W. Herbal Medicinals: A Clinician`s Guide. Contraception 2da edición Pharmaceutical Products press; 1998. p.,38,20,156, 173,201
62. XU, R., Sheng, G., Yi.,S.(1999): Recent advances in chemical studies on the active principles from plants for fertility regulation. Rev Pur. & Appl. Med;58(5):811-816.
63. Yu, L., Jung P., Pinglon, W. (2003): Channels in human sperm membrana and cantraceptive mechanism of male antifertility compounds derived from Chinese tradicional medicine. Acta Pharmacol Sin; 24(1): 22-30
64. Nacer, S., Jasem ,E., Lahijani, S., Hassan, S. (2008): Effectc of Alcoholic extract of *Phisalis alkekengi* on the reproductive system, spermatogenesis and sex hormones of adult NRMI mice. Rev. Dep. Biol. Faculty of sciences. Zabol University Iran. 110-118.

65. Khalil E. (2002): Hormonale profile and Histopatological study of the influence of silymarin of both male and female rats. National Organization of drug control and research. Rev_Egyp_Jour_hosp_Med.; (13): 112-122.
66. Foster, S., Tyler, E., Tylers honest Herbal, Conception. 4ta edición. Editorial Haworth Herbal press. Chicago Illinois;1999. p. 55, 63, 83, 279, 281,311, 312.
67. Bhat N. Chawla S. Rao M. (2007): Contraceptive evaluation of seed extract of *abrus precatorius* in male mouse (*mus musculus*). Rev. Journal of Herbal medicine and toxicology; 1(2):47-50.
68. Rajesh, K., Naz, N., Zhu,.X. (1999): Recombinant fertilization Antigen-1 Causes a Contraceptive Effect in Actively Immuniced Mice Rev_Biology_of_reproduction; 59:1095-1100
69. López, L., M., (2003): El papel de las Plantas Medicinales en el Tratamiento de la Menopausia. Rev. OFFARM; 10(22):112-116.
70. Pérez, E., B., Villavicencio, M., N., Ramírez, A., M., Lista de plantas útiles de Hidalgo. Editorial Universidad Autónoma de México; p.43: 2003.
71. García, R. (1998): Polibotánica Instituto Politécnico Nacional. La familia Loranthaceae, en el Estado de Aguascalientes Polibotánica. Rev. ISSN IPN; 007:1-114
72. Carrasco, J., C., Martinez, D., F.(2005): Distribución espacial de *P. Calyculatus* y *Tillandsia* esp. Rev. Ecología y Ecosistemas.57;24-43
73. Lozoya, X. (1998): La herbolaria en México. Revista Tercer milenio; 5(2) :1,4-5
74. Medicinal plants of Guianas. Surinam Guyana france. Medicinal Index: Marzo de 2009.[En línea] Disponible en [URL:WWW//:http://medicalindex.gov/guianas/french/surinam/malarian/psittacanthus/us/es/&%&\\$\\$\\$\\$sopo\\$](http://www.medicalindex.gov/guianas/french/surinam/malarian/psittacanthus/us/es/&%&$$$$sopo$)
75. Forero L. Contribuciones de la Etnobotánica al desarrollo de la investigación en plantas medicinales Marzo de 2009. [En línea] Disponible en URL: URL:http://CONTRIBUCIONES%20DE%20LA%20ETNOBOTANICA%20AL%20DESARROLLO%20DE%20LA%20INVEST

76. Sanchez, A. E., Maiti, R., K., Trujillo, B., P., (2004): Morpho-anatomical characters and secondary metabolites from *Psittacanthus calyculatus* (*Iorantheaceae*) Rev. Omega Yton; 25(4):119-121
77. Beltrán Martínez, C. A.; Ibarra Alvarado, C.; Rojas Molina, A. (2008) Efecto relajante del extracto etanólico de *P. Calyculatus*. Gaceta Universtaria. Universidad Autónoma de Querétaro; 2:12-3
78. Rodriguez E. Arreola M. "Endotellium-dependent effects of the ethanolic extract of the mistletoe *Psittacanthus calyculatus* on the vasomotor responses of rata aortic rings". Journal of ethnopharmacology.: Vol. 86: 213-218. 2003.
79. Deza, F., L., Bah, M., M., Castañeda, M., R., (Tesis): Activación de la Vía del Óxido Nítrico por Metabolitos Secundarios de *Psittacanthus calyculatus*. Universidad Autónoma de Querétaro; 2007
80. Martínez, F., R., García, B., A., Canales, M., M., Hernández, C., D., Ibarra, B., M., Romo, V., A., Ávila, A., G., (2008): Actividad Hipoglucemiante de *P. calyculatus*. 5ta. Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales del 28 al 31 de Mayo, 2008. Guadalajara Jalisco México
81. Castañeda, M., R., Mendoza, S., Martinez, M., Ibarra, C., Rojas, A., Gutierrez, D., (2007): Aislamiento de un ciclobutano altamente oxigenado a partir de *P. Calyculatus*. Rev Latinoamericana de Química;6(3):23-28
82. Miranda, M., M., Cuellar, C., A., Farmacognosia y productos naturales. Casanovas, N. H. Ed. La Habana, Cuba. Editorial Félix Varela; 2001.
83. Alonso, M., G., Ibarra, M., M., Martínez, D., S., Estudio fitoquímico de 5 plantas medicinales propias del Estado de Querétaro Universidad Autónoma de Querétaro Marzo 2009 [En línea] URL:WWW//:http://http/WWW.uaq.edu.gob/tesis/Estudio fitoquimico/5plantasdequeretaro.
84. De la Cruz B.B Caracterización de cinco extractos de plantas medicinales nativas de Guatemala validades científicamente. Informe de Tesis universidad de San Carlos de Guatemala. Sep 2005 Guatemala. P. 5-15

85. Canales, M., M., Hernández, D., Rodríguez, M., Jiménez, E., Orozco, M., Duran, D., "Base fitoquímica del uso tradicional de *Viguiera dentata*. Laboratorio de Fitoquímica. Fes Iztacala" UNAM Departamento de Productos naturales. Ciudad Universitaria 5ta reunion Nacional de Investigación de Productos Naturales Mayo 2008 México.
86. González, J., Benavides, V., Rojas, R., Pino, J. (2007): Efecto embriotóxico y teratogénico de *Ruta chalepensis* L- (ruda), en ratón (*mus musculus*). Rev. Per. Biol.; 13: 223-225
87. Hunter, M. (2005): Estudio de los aspectos farmacológico de un anticonceptivo. Rev_Col_Cienc_farm;34(2):23-29
88. McEvoy, G., K., Litvack, K., Welsh, O., H, Snow, E., K., Dewey, D., R., Pharmacist's drug Handbook. ASHP; p. 469 (2001)
89. Weniger, B., (1999): Plants of Haiti used in antifertility agents. Rev. Journal of ethnopharmacology (16):67
90. Wagner, M., L., Fernández, T., Varela, B., G., Álvarez, E., Ricco, R., Hajos, S., Gurni, A., A., Fernández, T., Taira, C., Cerda, P., (1998): El muérdago criollo *Ligaria cuneifolia* (R.ET.P.) Tiehg-Loranthaceae- desde el uso popular hasta el estudio de los efectos farmacológicos. "Anatomical, Phytochemical and Immunochemical Studies on *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae)".Rev_Pharm_Biol.; 36 (2): 1-9
91. Castro, H., J., García, P., I., González, W., M., Mezo, M., M., Fenoy, S., S., Rueda, C. C.,(2001): Evaluation of bobel-24 for treatment of experimental cryptosporidiosis.Rev. International Journal of parasitology; 31: 1134,1137.
92. Jefferson, W., Padilla, E., Newbold, R. (2005): Adverse effects on female development reproduction in CD-1 mice, folowing in neonatal exposure to fytoestrogen genistein at enviromentally. Rev. Biology of reproduction; 73: 798-806
93. Illera, M., Culliman, E., Youting, G., Linwgen, Y., Beyler, S., Lessey, M. (2000): Blockade of av, b3, integrin adversely effect, implatation in Mouse. Rev. Biology of Reproduction; 62:1285-1290

94. Domaracky, P., Rehas, S., Juhas, J., Koppel, J., (2007): Effects of selected essential oil on growth and development of Mouse preimplantation embryos in vivo. Rev. Physiological research; 56:97-104
95. Rodríguez M. Et. Al. (2006) Antidiabetic and antiradical activities of plants from venezuelan amazon. Rev brasileira de farmacognosia; 2(15):14-32
96. Oboeh, I. E., Zam, N., (2008): Oxitocic properties of aqueous extract of *Larathaceae*. Rev Pharm sci: 4(21):356-60