



Evaluación *in vitro* de extractos de plantas medicinales contra *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas

Rodríguez Garza Nancy Edith^{1*}, Molina Garza Zinnia Judith¹, Galaviz Silva Lucio¹, Quintanilla Licea Ramiro²

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Patología Molecular y Experimental. Ave. Universidad S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66451, México.

²Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Fitoquímica, Ave. Universidad S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66451, México.

*Autor para correspondencia: nancy_rdzg@hotmail.com

Recibido:

20/julio/2019

Aceptado:

21/octubre/2019

Palabras clave:

Trypanosoma cruzi,
*Trigonella foenum-
graecum*, *Haematoxylum
brasiletto*

Keywords:

Trypanosoma cruzi,
*Trigonella foenum-
graecum*, *Haematoxylum
brasiletto*

RESUMEN

La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, representa un importante problema de salud pública en América Latina ya que afecta entre 6-7 millones de personas. El tratamiento común para esta enfermedad es el uso de nifurtimox y benznidazol. No obstante, estos fármacos presentan diversos efectos adversos y baja eficacia según la fase de la enfermedad y el genotipo del parásito; por lo cual es necesaria la búsqueda de nuevos tratamientos alternativos. En este trabajo se evaluó la actividad tripanosomicida de los extractos acuosos y metanólicos de *Trigonella foenum-graecum* y *Haematoxylum brasiletto* sobre epimastigotes de las cepas Y y Nuevo León de *T. cruzi* mediante el método del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) y conteo en cámara de Neubauer. Todos los extractos mostraron tener buena actividad tripanosomicida al ser las concentraciones letales encontradas menores que las reportadas contra otros microorganismos, además estos extractos han sido reportados como no tóxicos en otras investigaciones.

ABSTRACT

Chagas disease, caused by *Trypanosoma cruzi*, represents an important public health problem in Latin America, affecting between 6-7 million people. The common treatment for this disease is the use of nifurtimox and benznidazole. However, these drugs produce adverse side effects and present low efficacy according to the stage of the disease and the parasite genotype; therefore, the search for new alternative treatments is necessary. For this reason, in this work we evaluated the trypanosomicidal activity of the aqueous and methanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* and *Haematoxylum brasiletto* on epimastigotes of the strains Y and Nuevo Leon of *T. cruzi*, using the colorimetric method of the 3-(4,5-Dimethylthiazolyl-2)-2,5-Diphenyl Tetrazolium Bromide (MTT) and the Neubauer chamber. All the extracts showed good trypanosomicidal activity, being the lethal concentrations found lower than those reported against other microorganisms, in addition, these extracts have been reported as non-toxic according to the established in other investigations.

Introducción

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una parasitosis causada por el protozoario hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) (Weiss et al., 2011). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que entre 6 y 7 millones de personas en el mundo padecen de esta enfermedad (OMS, 2019). Asimismo, se estima que cada año se presentan alrededor de 45 000 muertes causadas por este parásito (McPhee et al., 2013). Y que alrededor de 100 millones de personas están en riesgo de contraer esta enfermedad (Curtis et al., 2008).

La enfermedad de Chagas se encuentra principalmente en zonas endémicas de 21 países de América Latina, donde se incluye México. Sin embargo, en las últimas décadas se ha observado con mayor frecuencia en los Estados Unidos de América, Canadá, muchos países de Europa y algunos del Pacífico Occidental (OMS, 2019). Esto como resultado de la migración (Gascón et al., 2010).

En América Latina, *T. cruzi* se transmite principalmente por contacto con las heces u orina infectadas de los triatomíneos. Sin embargo, este parásito también se puede transmitir mediante otras formas; como por una transfusión de sangre infectada, de la madre infectada a su hijo durante el embarazo o el parto, mediante un trasplante de órganos provenientes de una persona infectada, por accidentes de laboratorio y por la ingesta de alimentos contaminados con el parásito (OMS, 2019).

Una vez que se adquiere al parásito, en la enfermedad de Chagas comúnmente se distinguen dos fases clínicas, siendo una aguda y una crónica. Ambas fases pueden ser asintomáticas o ser potencialmente mortales (OMS, 2019).

La fase aguda se presenta en las primeras semanas o los primeros meses de la infección. Durante esta fase el parásito se encuentra circulando en sangre en cantidades detectables. Generalmente esta fase pasa desapercibida por ser asintomática o exhibir solo signos y síntomas leves que no son exclusivos de la enfermedad de Chagas. Los síntomas pueden incluir fiebre, fatiga, dolores corporales, dolor de cabeza y sarpullido. Los signos pueden ser agrandamiento leve del hígado o el bazo, inflamación de los ganglios e inflamación local en el lugar por donde el parásito entró en el cuerpo, lo que se conoce como chagoma. Durante esta etapa, en muy pocas ocasiones, los niños pequeños mueren (<5%) por inflamación o infección grave del músculo cardíaco o del cerebro. De igual manera, la fase aguda también puede

ser grave en las personas con sistemas inmunitarios debilitados (CDC, 2017).

Después de la fase aguda, se presenta la fase crónica, clínicamente esta fase se desarrolla de 10 a 30 años posterior a la infección inicial. Durante esta fase los parásitos penetran y se multiplican en las células de los tejidos, particularmente del sistema nervioso autónomo y del músculo no estriado. La infección puede permanecer asintomática durante décadas o incluso de por vida. Sin embargo, algunas personas presentan complicaciones cardíacas, como agrandamiento del corazón, insuficiencia cardíaca, alteración del ritmo o frecuencia cardíaca y paro cardíaco, lo cual puede ocasionar una muerte súbita; o complicaciones intestinales, que pueden incluir agrandamiento del esófago o del colon, lo que puede causar dificultades para comer o defecar. El riesgo promedio de presentar una o más de estas complicaciones en el transcurso de la vida es de aproximadamente 30% (CDC, 2017).

Para tratar la enfermedad de Chagas únicamente existen dos medicamentos, siendo estos el benznidazol y nifurtimox. Ambos medicamentos son eficaces casi al 100% para curar la enfermedad si se administran al comienzo de la infección en la etapa aguda. No obstante, su eficacia disminuye a medida que transcurre más tiempo desde el inicio de la infección (OMS, 2019). Asimismo, estos dos medicamentos pueden causar frecuentemente efectos secundarios graves. El nifurtimox puede causar anorexia, náuseas, vomito, dolor abdominal, insomnio, desorientación, parestesias y polineuritis, mientras que el benznidazol puede generar neuropatía y supresión de la médula ósea (Mansur y Barbieri, 2002). Otra desventaja de estos medicamentos es la diferente susceptibilidad que han desarrollado el parásito a estos fármacos, debido a la regulación de la expresión del gen de la adenina fosforibosiltransferasa, de la enzima lipoamido deshidrogenasa y de la tryparedoxina peroxidasa en cepas naturalmente resistentes (García-Huertas et al., 2017). Además, la respuesta hacia el fármaco varía en función del área geográfica, puesto que en cada lugar se encuentra un tipo de linaje de las cepas de *T. cruzi* infectantes, y se ha descrito diferente susceptibilidad de algunas cepas de *T. cruzi* al tratamiento con benznidazol (Mejía-Jaramillo et al., 2012). Por esta razón es de suma importancia buscar tratamientos alternativos que den mejores resultados contra esta enfermedad.

El uso de plantas medicinales y la experimentación de sus componentes es una práctica ancestral que ha sido utilizada para tratar diferentes tipos de padecimientos (Rodríguez y Barreto, 2015). Más del 25% de los

medicamentos utilizados durante los últimos 20 años proceden directamente de las plantas, mientras que otro 25% son derivados de productos naturales, químicamente modificados. Cabe mencionar que tan sólo entre el 5% al 15% de las aproximadamente 250,000 plantas de uso medicinal, han sido investigadas para buscar compuestos bioactivos (Rivas-Morales et al., 2016). Por esta razón, la búsqueda de nuevos tratamientos contra *T. cruzi* utilizando plantas es una buena alternativa.

Trigonella foenum-graecum L., cuyo nombre común es alholva o fenogreco, es una planta anual de la familia Fabaceae, con una amplia distribución geográfica. La cual presenta muchas propiedades terapéuticas y medicinales, entre las que destacan efectos antidiabéticos, anticolesterolémicos, antiinflamatorios, antitumorales, parasiticidas (Sheikhlar, 2013), antioxidantes, antibacteriales y antifúngicos (Yadav y Baquer, 2014).

Mientras que *H. brasiletto*, también conocido como palo de Brasil, es un árbol perteneciente a la familia Leguminosae que se encuentra distribuido desde el Norte y centro de México hasta Colombia y Venezuela (Guerra-Centeno et al., 2016). El cual ha sido utilizado tradicionalmente para tratar la depresión, los trastornos renales, los dolores de muelas, para problemas cardiacos y digestivos, fiebres, infecciones de membranas mucosas y hemorragias. Asimismo, se ha demostrado que es inhibidor de bacterias, *Candida albicans* (Rivero-Cruz, 2008) y *T. cruzi* (Abe et al., 2002; Molina et al., 2014; Pérez et al., 2017).

Por lo cual, el estudio de estas dos plantas para buscar nuevas alternativas de tratamiento contra *T. cruzi* es una opción muy factible.

Metodología

Obtención del material vegetal

Se adquirieron 100 g de las semillas en polvo de *T. foenum-graecum* y de la corteza de *H. brasiletto* en la tienda Pacalli®, ubicada en Monterrey, Nuevo León, México. Los vouchers de referencia del material vegetal se depositaron en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (*T. foenum-graecum* voucher botánico 26703 y *H. brasiletto* voucher botánico 26695).

Obtención de los extractos metanólicos

Se pesaron 19 g material vegetal en un cartucho de celulosa, el cual fue colocado en el extractor Soxhlet. Como solvente de extracción se empleó 500 mL de

metanol absoluto. El extractor Soxhlet se montó sobre un agitador magnético para obtener agitación constante. Al comenzar a destilar el solvente inició la extracción, la cual se mantuvo por 48 h. Una vez terminado el tiempo de extracción se dejó enfriar el extracto a temperatura ambiente y después se filtró con la ayuda de un papel filtro. Posteriormente, se concentró por medio de una evaporación a vacío mediante un rotavapor, hasta obtener un volumen aproximado de 50 mL. Una vez concentrado el extracto, se pasó a un frasco el cual fue colocado en un desecador de vidrio a vacío hasta retirar la totalidad del solvente. Una vez obtenido el extracto sin solvente, éste se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su utilización.

Obtención de los extractos acuosos

Se pesaron 19 g de material vegetal en un cartucho de celulosa el cual fue colocado en el extractor Soxhlet. Como solvente de extracción se utilizaron 500 mL de agua destilada. El extractor Soxhlet se montó sobre un agitador magnético para obtener agitación constante. Al comenzar a condensar el agua destilada se inició la extracción, la cual se mantuvo por un periodo de 10 sifones. Una vez terminada la extracción se dejó enfriar a temperatura ambiente. El extracto se filtró y se distribuyó en 6 vasos de precipitado. El extracto obtenido se almacenó en congelación a una temperatura aproximada de -20 °C. Posteriormente, el extracto congelado se sometió a un proceso de liofilización. Una vez obtenido el extracto libre del solvente, éste se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su utilización.

Evaluación de la actividad tripanosomicida de los extractos

Las cepas Nuevo León y Y de *T. cruzi* se cultivaron en el medio Liver Infusion Tryptose (LIT) suplementado con 10% de suero fetal bovino y se cosecharon durante la fase de crecimiento exponencial, cuando los parásitos alcanzaron una densidad celular de 1.5×10^6 epimastigotes/mL (Valencia et al., 2011).

Para el bioensayo, se preparó una solución stock con 24 mg de cada uno de los extractos disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO) al 1 % y a partir de dicha solución se realizaron diluciones. Para *T. foenum-graecum* se realizaron diluciones de 24,000 µg/mL, a 93.75 µg/mL. Mientras que para *H. brasiletto* se realizaron diluciones de 10,000 a 93.75 µg/mL.

Los bioensayos se realizaron por duplicado en una microplaca estéril de 96 pozos. En cada pozo se depositaron 190 µL de la suspensión del medio LIT con 1.5×10^6 epimastigotes/mL y 10 µL de cada una de las

diferentes concentraciones de cada extracto con tres repeticiones de cada uno de los tratamientos.

Asimismo, como blanco se utilizó medio LIT sin parásitos y cada una de las concentraciones del extracto. De igual manera, como control positivo se utilizó nifurtimox a 10 µg/mL y como control negativo DMSO 1 %, con un volumen igual al de los extractos (Muelas-Serrano et al., 2000). Las microplacas se incubaron por 96 h a 27 °C (Pizzolatti et al., 2002).

El número de epimastigotes vivos se determinó mediante el método colorimétrico del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) (Muelas-Serrano et al., 2000). Y mediante la realización de un conteo en cámara de Neubauer (Pérez et al., 2017).

Para el método del MTT, después de la incubación se adicionaron 10 µL de MTT a una concentración de 5 mg/mL a cada pozo y se incubó la microplaca a 27°C por 4 h. Posteriormente, para la extracción del formazan a cada pozo se le agregó 100 µL de duodecil sulfato de sodio (SDS) al 10% - 0.1N HCl y la microplaca se dejó incubar por 4 h (Muelas-Serrano et al., 2000). El número de epimastigotes vivos se determinó indirectamente al obtener la densidad óptica a 570 nm y utilizar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{(A_c - A_m) - (A_p - A_{pm})}{A_c - A_m} \times 100$$

Donde:

A_c = Promedio de las absorbancias del control negativo

A_m = Promedio de las absorbancias del medio LIT solo

A_p = Promedio de las absorbancias de cada tratamiento

A_{pm} = Promedio del blanco de cada tratamiento

Para el conteo en la cámara de Neubauer, de la solución stock extracto/parásito, con sus diluciones, se separaron 20 µL para realizar un conteo de los epimastigotes vivos (Pérez et al., 2017).

El número de epimastigotes vivos se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{C_c - C_p}{C_c} \times 100$$

Donde:

C_c = Promedio de parásitos en el control negativo

C_p = Promedio de parásitos s en cada tratamiento

Para determinar si existía o no diferencia significativa entre los resultados obtenidos mediante el método del MTT y el conteo en la cámara de Neubauer se realizó un ANOVA bifactorial al azar utilizando el programa SPSS 25.0. De igual manera, para determinar si existía o no diferencia significativa entre los resultados obtenidos de las cepas Y y Nuevo León de *T. cruzi* se realizó un ANOVA bifactorial al azar utilizando el programa SPSS 25.0.

Los resultados de la actividad tripanosomicida se expresó como la concentración letal 50 (CL_{50}) y 90 (CL_{90}), las cuales corresponden a las concentraciones en las que ocurre el 50 % y 90% de la muerte de los parásitos respectivamente, con un 95% de confianza. Estas concentraciones se determinaron mediante un análisis de regresión dosis-respuesta utilizando el programa SPSS 25.0 (Al-Adhroey et al., 2010) con un intervalo de confianza del 95%.

Resultados y discusión

Se compararon los resultados obtenidos mediante el método colorimétrico del MTT y mediante el conteo en la cámara de Neubauer de la actividad tripanosomicida de los extractos (Figuras 1-4), encontrando que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos mediante ambos métodos ($p > 0.05$). Con lo cual se comprueba que las dos técnicas tienen la misma sensibilidad y especificidad para el conteo de epimastigotes *in vitro*, tal y como lo menciona Muelas-Serrano et al. (2000).

De las dos plantas utilizadas, la que mostró mejor actividad tripanosomicida fue *H. brasiletto*, ya que presentó sobre los epimastigotes de la cepa Y de *T. cruzi* una CL_{50} de 179.8 µg/mL y 245.7 µg/mL para el extracto metanólico y acuoso respectivamente (Figura 5).

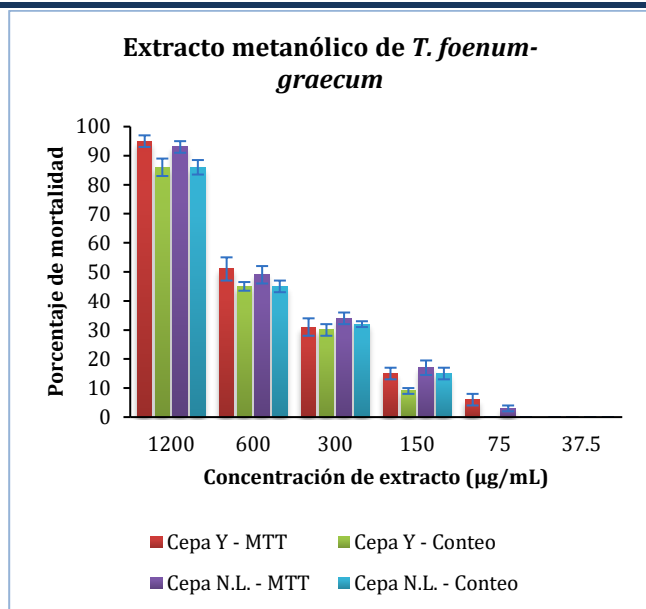


Figura 1. Comparación del porcentaje de mortalidad obtenido mediante el conteo en cámara de Neubauer y el método del MTT del extracto metanólico de *T. foenum-graecum* sobre la forma epimastigote de las cepas Y y Nuevo León de *T. cruzi*. Cada barra representa la media \pm la DE de las 3 repeticiones.

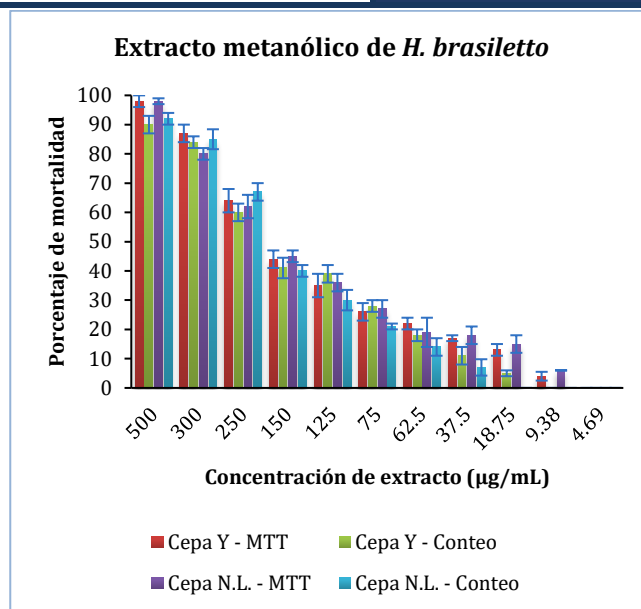


Figura 3. Comparación del porcentaje de mortalidad obtenido mediante conteo en cámara de Neubauer y el método del MTT del extracto metanólico de *H. brasiletto* sobre la forma epimastigote de las cepas Y y Nuevo León de *T. cruzi*. Cada barra representa la media \pm la DE de las 3 repeticiones.

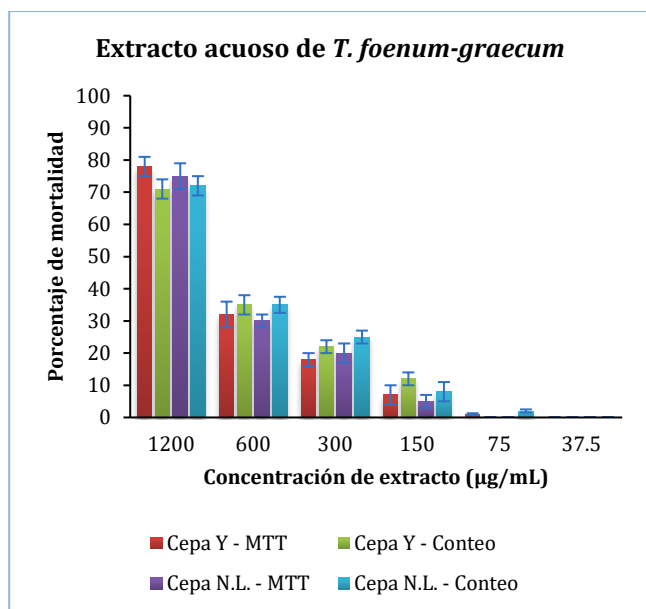


Figura 2. Comparación del porcentaje de mortalidad obtenido mediante el conteo en cámara de Neubauer y el método del MTT del extracto acuoso de *T. foenum-graecum* sobre la forma epimastigote de las cepas Y y Nuevo León de *T. cruzi*. Cada barra representa la media \pm la DE de las 3 repeticiones.

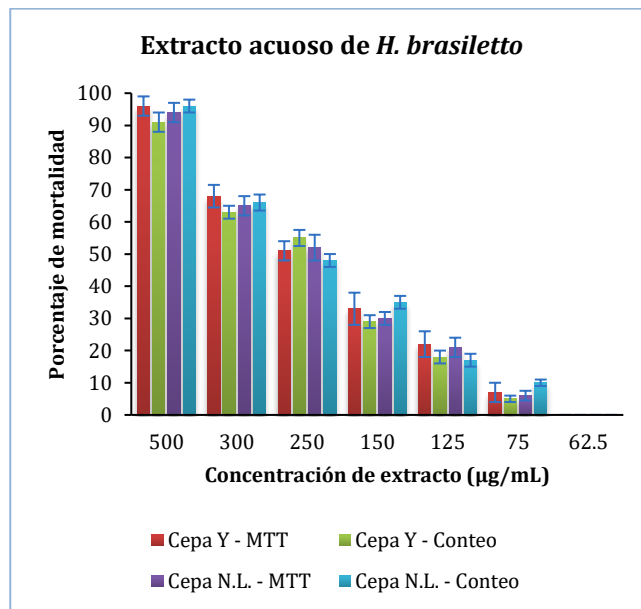


Figura 4. Comparación del porcentaje de mortalidad obtenido mediante conteo en cámara de Neubauer y el método del MTT del extracto acuoso de *H. brasiletto* sobre la forma epimastigote de las cepas Y y Nuevo León de *T. cruzi*. Cada barra representa la media \pm la DE de las 3 repeticiones.

Se observó que la cepa Y es ligeramente más susceptible a los extractos probados que la cepa Nuevo León (Figura 5); no obstante, no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos de ambas cepas ($p > 0.05$). En cuanto al origen de las cepas, la cepa Y fue originalmente aislada de una paciente japonesa que residía en Brasil, actualmente esta cepa se utiliza en gran número de experimento en todo el mundo ya que presenta gran virulencia (Amato, 2010). Mientras que la cepa Nuevo León, como su nombre lo indica fue aislada en el estado de Nuevo León, México. Por lo anterior, se puede decir que la eficacia de los extractos es independiente del lugar de origen de la cepa.

Los resultados obtenidos de la actividad tripanosomicida se muestran en la Tabla 1. Cabe mencionar que el nifurtimox a 10 $\mu\text{g/mL}$ provocó una mortalidad de 80% en ambas cepas de *T. cruzi*.

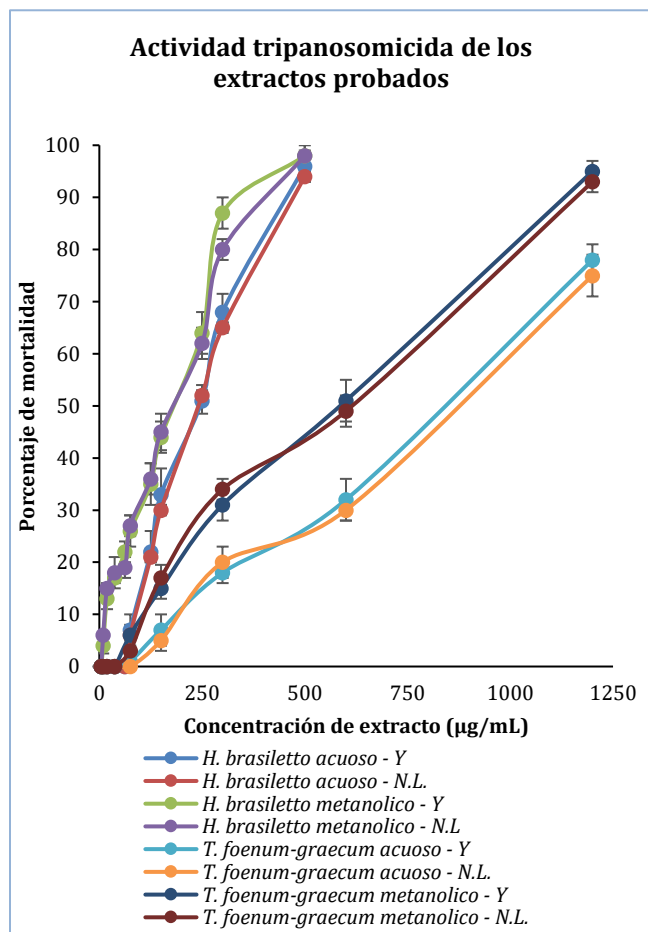


Figura 5. Efecto tripanosomicida de los extractos acuosos y metanólicos de *H. brasiletto* y *T. foenum-graecum* sobre las cepas de Y y Nuevo León de *T. cruzi*. Cada punto representa la media de 3 determinaciones \pm la DE.

Tabla 1. Resultados obtenidos de la evaluación de la actividad tripanosomicida de los extractos probados.

Planta	Parte utilizada	Tipo de extracto	Cepa de <i>T. cruzi</i>	CL ₅₀ $\mu\text{g/mL}$ (IC 95%)	CL ₉₀ $\mu\text{g/mL}$ (IC 95%)
<i>T. foenum-graecum</i>	Semilla	MET	Y	584.4 (469.2-763.6)	982.0 (794.4-1331.6)
			N.L.	604.0 (466.9-833.2)	1022.1 (802.5-1377.9)
		AQ	Y	830.8 (701.9-1013.1)	>1200
			N.L.	855.9 (705.5-1083.0)	>1200
<i>H. brasiletto</i>	Corteza	MET	Y	179.8 (156.6-208.3)	344.5 (300.8-409.2)
			N.L.	186.4 (163.6-214.2)	365.4 (321.0-429.6)
		AQ	Y	245.7 (214.7-286.8)	387.6 (336.5-469.8)
			N.L.	255.2 (222.5-298.5)	403.6 (349.9-490.0)

MET, metanólico; AQ, acuoso; N.L., Nuevo León

CL₅₀ = Concentración que causa la muerte del 50% de los parásitos en un intervalo de confianza del 95%

CL₉₀ = Concentración que causa la muerte del 90% de los parásitos en un intervalo de confianza del 95%

IC = Intervalo de confianza

El extracto acuoso de *T. foenum-graecum* ya se ha utilizado para inhibir a *Acanthamoeba* sp., donde se encontró que una concentración de 750 mg/mL elimina tanto a trofozoítos como quistes (Dodangeh et al., 2018); en comparación, con los resultados obtenidos en este estudio, el extracto acuoso mostró una mortalidad del 50% con 0.831 mg/mL, lo que se demuestra que esta planta podría servir como antiparasitario contra *T. cruzi*.

Por otro lado, el extracto metanólico se ha utilizado para inhibir a *Giardia lamblia*, donde una concentración de 5 mg/mL produce la inhibición del 98% de los parásitos (Kayondo et al., 2018); en comparación con nuestros resultados, el extracto metanólico mostró mejor actividad contra la forma epimastigote de *T. cruzi*, donde una concentración de 0.982 mg/mL provocó una mortalidad de 90%.

En cuanto a la toxicidad de estos extractos, el extracto acuoso de *T. foenum-graecum* se ha probado de forma oral para tratar la hipoglucemia en seres humanos en una dosis de 40 mg/kg, sin mostrar algún tipo de efecto adverso (Abdel-Barry et al., 2000). Mientras que el extracto metanólico, ha sido administrado a ratas de

forma oral a una dosis de 3 g/kg sin mostrar ser tóxico (Mowl et al., 2009). Por lo cual las concentraciones letales obtenidas contra la forma epimastigote de *T. cruzi* son bastante buenas en ambos extractos, al ser menores que las reportadas contra otros parásitos (Dodangeh et al., 2018; Kayondo et al., 2018) y al ser consideradas como no tóxicas de acuerdo con lo establecido en otras investigaciones (Abdel-Barry et al., 2000; Mowl et al., 2009).

Por otra parte, al evaluar el efecto tripanosomicida de los extractos obtenidos a partir de la corteza de *H. brasiletto*, se encontró que en la forma epimastigote de la cepa Y de *T. cruzi* el extracto metanólico presenta una CL_{50} de 179.8 $\mu\text{g/mL}$. Esta concentración difiere de algunos resultados publicados anteriormente contra *T. cruzi*, puesto que Molina et al. (2014) y Pérez et al. (2017) reportan una CL_{50} de 7.92 $\mu\text{g/mL}$ y 543 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente; por lo que se observa que la CL_{50} obtenida, esta intermedia entra las ya reportadas. Esta diferencia entre las CL_{50} podría deberse a la forma de almacenamiento que se le dio a los extractos, ya que se ha determinado que el tiempo y la temperatura de almacenamiento afecta su actividad biológica (Haouala et al., 2008).

Por otro lado, el extracto acuoso de *H. brasiletto* ha sido utilizado contra *Vibrio cholerae* O139, donde presentó una concentración mínima bactericida de 45 mg/mL (García et al., 2005); en comparación, el extracto acuoso mostró mejor actividad contra *T. cruzi*, ya que una concentración de 0.388 mg/mL causó una mortalidad del 90%.

En cuanto a la toxicidad de los extractos de *H. brasiletto*, se ha determinado que la CL_{50} en *Artemina salina* del extracto metanólico de *H. brasiletto* es de 2.412 mg/mL (Pérez et al. 2017). Asimismo, se ha establecido que esta planta posee toxicidad leve (UNAM, 2019), por lo cual las CL_{50} encontradas contra la forma epimastigote de *T. cruzi* son bastante buenas y son consideradas como no tóxicas de acuerdo con lo establecido en otras investigaciones (Pérez et al. 2017).

Conclusiones

Se evaluó la actividad tripanosomicida de los extractos metanólicos y acuosos de *T. foenum-graecum* y *H. brasiletto* sobre la forma epimastigote de *T. cruzi* de las cepas Y y Nuevo León. Los extractos de ambas plantas presentaron buena actividad tripanosomicida y las concentraciones letales (50 y 90) encontradas han sido reportadas como no tóxicas. Lo cual abre la posibilidad de realizar la identificación de los compuestos químicos

presentes en los extractos responsables de la actividad tripanosomicida.

Asimismo, la planta que mostró los mejores resultados fue *H. brasiletto*, donde el extracto acuoso tuvo una muy buena actividad tripanosomicida, lo que abre la posibilidad de utilizar el té de esta planta como una alternativa de tratamiento y profilaxis contra *T. cruzi* en comunidades donde hay reportes de gran incidencia de este parásito. Sin embargo, para esto serían necesarios estudios adicionales para probar su actividad y dosis en un modelo murino.

De igual manera, se comprobó que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos mediante el método colorimétrico del MTT como el conteo en cámara de Neubauer, por lo cual se puede concluir que las dos técnicas tienen sensibilidad y especificidad similar para el conteo de epimastigotes *in vitro*.

Asimismo, se observó que no hubo diferencia significativa entre los resultados de la actividad tripanosomicidad en la cepa Y y Nuevo León de *T. cruzi*.

Agradecimientos

A los miembros de los laboratorios de Fitoquímica y Patología Molecular y Experimental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL.

Referencias

- Abdel-Barry J., Abdel-Hassan I., Jawad A., Al-Hakim M. (2000). Hypoglycaemic effect of aqueous extract of the leaves of *Trigonella foenum-graecum* in healthy volunteers. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 6 (1): 83-88.
- Abe F., Nagafuji S., Yamauchi T., Okabe H., Maki J., Higo H., Akahane H., Aguilar A., Jiménez-Estrada M., Reyes-Chilpa R. (2002). Trypanocidal constituents in plants. 1. Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in Guaco, roots of *Aristolochia taliscana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25: 1188-1191.
- Al-Adhroey A., Nor Z., Al-Mekhlafi H., Mahmud R. (2010). Median lethal dose, antimalarial activity, phytochemical screening and radical scavenging of methanolic *Lengua galanga* rhizome extract. *Molecules*, 15: 8366-8376.
- Amato V. (2010). Origin of the "Y strain" of *Trypanosoma cruzi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 52(3): 171.

- CDC. (2017). Hoja informativa detallada. Recuperado el 22 de junio del 2019, de <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/es/informativa/detallada.html>
- Curtis H., Barnes S., Schnek A., Massaeini A. (2008). *Biología*. 7ª Ed. Argentina: Ed. *Medica Panamericana*, p. 491.
- Dodangeh S., Niyyati M., Kamalinejad M., Lorenzo-Morales J., Moshfe A., Haghghi A., Azargashbg E. (2018). In-vitro activity of *Trigonella foenum graecum* seeds against a clinical strain of *Acanthamoeba* genotype T4. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(2): 661-667.
- García S., Alarcón G., Gómez M., Heredia N. (2005). *Haematoxylon brasiletto* Extracts Inhibit Growth, Enterotoxin Production, and Adhesion of *Vibrio cholerae*. *Food Biotechnology*, 19(1): 15-26.
- García-Huertas P., Mejía-Jaramillo A., González L., Triana-Chávez O. (2017). Transcriptome and functional genomics reveal the participation of adenine fosphoribosyl transferase in *Trypanosoma cruzi* resistance to benznidazole. *Journal of Cellular Biochemistry*, 118(7): 1936-1945.
- Gascón J., Bern C., Pinazo M. (2010). Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Tropica*, 115: 22-27.
- Guerra-Centeno D., Valde-Sandoval C., Orozco-Acevedo D., Fuentes-Rousselin H. (2016). Guía para la identificación de especies de árboles y arbustos comunes en el agropaisaje de Guatemala. 1ª Ed. Serviprensa, p. 96.
- Haouala R., Hawala S., El-Ayeb A., Khanfir R., Boughanmi N. (2008). Aqueous and organic extracts of *Trigonella foenum-graecum* L. inhibit the mycelia growth of fungi. *Journal of Environmental Sciences*, 20(12):1453-7.
- Kayondo N., Ayubu J., Elnazeer A. (2018). Antigiardial activity of some plant extracts used in traditional medicine in Sudan in comparison with metronidazole. *Microbiology Current Research*, 2(4): 75-79.
- Mansur R., Barbieri G. (2002). Enfermedad de Chagas: Controversia sobre el tratamiento específico en fases latente y crónica. *Revista de la Federación Argentina de Cardiología*, 31(3): 274-279.
- McPhee S., Papadakis M., Rabow M. (2013). Diagnóstico clínico y tratamiento. 50ª Ed. McGraw-Hill, p. 1423.
- Mejía-Jaramillo A., Fernández G., Montilla M., Nicholls R., Triana-Chávez O. (2012). Sensibilidad al benznidazol de cepas de *Trypanosoma cruzi* sugiere la circulación de cepas naturalmente resistentes en Colombia. *Biomédica*, 32: 196-205.
- Molina-Garza Z., Bazaldúa-Rodríguez A., Quintanilla-Licea R., Galaviz-Silva L. (2014). Anti-*Trypanosoma cruzi* activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico. *Acta Tropica*, 136: 14-18.
- Mowl A., Alauddin M., Rahman M., Ahmed K. (2009). Antihyperglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) seed extract in alloxan-induced diabetic rats and its use in diabetes mellitus: a brief qualitative phytochemical and acute toxicity test on the extract. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 6 (3): 255-261.
- Muelas-Serrano S., Nogal-Ruiz J., Gómez-Barrio A. (2000). Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Parasitology Research*, 86: 999-1002.
- OMS. (2019). La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Recuperado el 15 de junio del 2019, de [http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Pérez K., Galaviz L., Iracheta J., Lucero E., Molina Z. (2017). Actividad contra *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) de extractos metanólicos de plantas de uso medicinal en México. *Revista de Biología Tropical*, 65(4): 1459-1469.
- Pizzolatti M., Koga A., Grisard E., Steindel M. (2002). Trypanocidal activity of extracts from Brazilian Atlantic rain forest plant species. *Phytomedicine*, 10: 422-426.
- Rivas-Morales C., Oranday-Cardenas M., Verde-Star M. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. 1ª Ed. OmniaScience, p. 2.
- Rivero-Cruz J. (2008). Antimicrobial compounds isolated from *Haematoxylon brasiletto*. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1,2): 99-103.
- Rodríguez D., Barreto A. (2015). Propiedades biológicas de *Pedilanthus tithymaloides*: una alternativa natural de tratamiento. *CienciActual*, 5: 40-48.
- Sheikhlar A. (2013). *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugreek) as a Medicinal Herb in Animals Growth and Health. *Science International*, 1: 194-198.
- UNAM. (2019). Atlas de Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado el 24 de abril del

2019, de
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>

Valencia L., Muñoz D., Robledo S., Echeverría F., Arango G., Vélez I., Triana O. (2011). Actividad tripanomicida y citotóxica de extractos de plantas colombinas. *Biomédica*, 31: 552-559.

Weiss L., Tanowitz H., Kirchhoff L. (2011). Advances in parasitology: Chagas Disease, Part A. Elsevier, p. 2.

Yadav U., Baquer N. (2014). Pharmacological effects of *Trigonella foenum-graecum* L. in health and disease. *Pharmaceutical Biology*, 52(2): 243-254.