

## **ANTECEDENTES**

### **Generalidades del Propóleo**

El propóleo es un material resinoso que las abejas elaboran a partir de exudados y resinas de árboles, plantas y flores, es utilizado por las abejas para la construcción y el mantenimiento de la colmena: tapando grietas o hendiduras evitando así la entrada de viento frío o la pérdida de calor, ayudando a consolidar los componentes de la colmena y aislando las partículas extrañas dentro de la colonia para evitar su descomposición (Burdock, 1998; Paulino y col., 2003; Bankova, 2005), creando un ambiente de asepsia a la colmena, de allí el origen de la palabra “propolis” que en griego significa defensor de la ciudad (Burdock, 1998; Bedascarrasbure y col., 2000; Bankova, 2005).

Las abejas recolectoras (pecoreadoras) (figura 1) extraen el propóleo de las yemas valiéndose de sus mandíbulas y de su primer par de patas, así como la secreción de sus glándulas mandibulares (ácido 10-hidroxidecenoico) lo cual permite su ablandamiento y trituración para ser transportado a la colmena. Al entrar a la misma, las propolizadoras toman pequeñas cantidades de esa sustancia completando el propolizado (Bedascarrasbure y col., 2000).

El propóleo es una sustancia resinosa, balsámica, de color verde pardo, castaño o incluso casi negro. Por lo que la composición de los propóleos estará dada tanto por los exudados recolectados, como por las sustancias secretadas como parte del metabolismo de la abeja y de los materiales que son agregados durante la elaboración del propóleo (Paulino y col., 2003) (Bankova, 200; Uzel y col., 2005). Por lo tanto, la composición de los propóleos dependerá tanto de la vegetación, clima, época del año, así como de la especie de abeja que lo haya recolectado (Paulino y col., 2003; Bankova, 2005; Uzel y col., 2005).



**Figura 1.** Abeja recolectora “pecoreadora” cuya función es la de recolectar el néctar de las flores, polen, propóleo, de las yemas de árboles (Bedascarrasbure, y col 2000). Fuente: University of California, Harry H. Laidlaw Jr. (2009) Honey Bee Research Facility.

<http://beebiology.ucdavis.edu/> (Julio 27, 2010)

Existe evidencia histórica que data del año 300 a. C. sobre el uso de los propóleos con fines medicinales (Russo y col., 2004; Uzel y col., 2005). Los antiguos egipcios lo utilizaban para embalsamar a sus momias, los griegos para aliviar diferentes padecimientos: Hipócrates (460 - 377 a. C.) lo administró para el tratamiento de úlceras en piel y Aristóteles (384 - 322 a. C.) para el tratamiento de abscesos y heridas. Los Incas lo utilizaban para disminuir la fiebre (Castaldo y col., 2002). En la actualidad es utilizado por algunas culturas de los estados europeos (Balcánicos) como tratamiento para heridas, quemaduras, faringitis y úlcera estomacal (Bankova, 2005). La administración de este producto se ha mantenido durante siglos hasta llegar a nuestros tiempos, en los que se están realizando investigaciones científicas sobre el empleo de preparados a base de propóleos en los campos de la biología y la medicina humana.

La investigación sobre la industria farmacéutica ha dado popularidad al comercio de los propóleos en Estados Unidos, la Unión Europea y en Japón ya que están presentes en los biocosméticos y son utilizados como medicinas alternativas, así como complementos dietéticos, que mejoran la salud y previenen enfermedades (Bankova, y col., 2000; Weinstein y col., 2005). Japón, es el líder de importación de propóleos teniendo preferencia por el brasileño (Salatino y col., 2005). En el año 2002, México produjo 3.3 toneladas de propóleo (Ortega-Rivas y col., 2004).

### **Composición Química**

La composición de los propóleos es bastante compleja y variada ya que depende de la flora y de las condiciones geográficas y climáticas donde se elabora el producto (Bosio y col., 2003). Las abejas recolectan las resinas en un perímetro de 1-2 Km alrededor de la colmena (Espinoza, 2004; Castillo, 2002) y su composición dependerá de la vegetación circundante y de la preferencia de la abeja por un determinado tipo de flores, según su color, aroma, forma y floración, (Bankova, 2005).

Por su consistencia y estructura, los propóleos pueden clasificarse en dos grupos: 1) Los de naturaleza fluida y 2) Los balsámicos-oleo-resinosos. Los primeros presentan una fracción importante de agentes volátiles, mientras que en los balsámicos predomina la consistencia densa, con bajo contenido de volátiles, susceptible de polimerización y con frecuencia se percibe el aroma de las plantas en forma concentrada; en general son sustancias viscosas, semisólidas y cauchosas. Dependiendo de su origen y condiciones térmicas; se presentan como un material duro a los 15°C y se torna más maleable a medida que aumenta la temperatura. Su punto de fusión varía entre 60 a 70°C, llegando en algunos casos hasta 100°C (Salamanca y col., 2007).

Se han identificado más de 300 constituyentes de los propóleos, dentro de los cuales una amplia variedad son compuestos fenólicos, principalmente de tipo flavonoide, siendo estos, a los que se les ha atribuido parte de las propiedades biológicas de los propóleos (Paulino y col., 2003). También se han identificado otros constituyentes como ácidos orgánicos, ésteres, alcoholes, aldehídos y terpenos (Silici y col., 2005; Uzel y col., 2005; Sahinler y col., 2005). De manera general, la composición de los propóleos se basa en resinas y aceites volátiles en un 50%, cera en un 30%, aceites aromáticos en un 10%, polen 5% y el 5% restante está constituido por otras sustancias y detritos orgánicos. También se encuentran pequeñas cantidades de vitamina B, azúcares, hierro zinc, oro, plata y potasio (Farré y col., 2004).

### **Flavonoides**

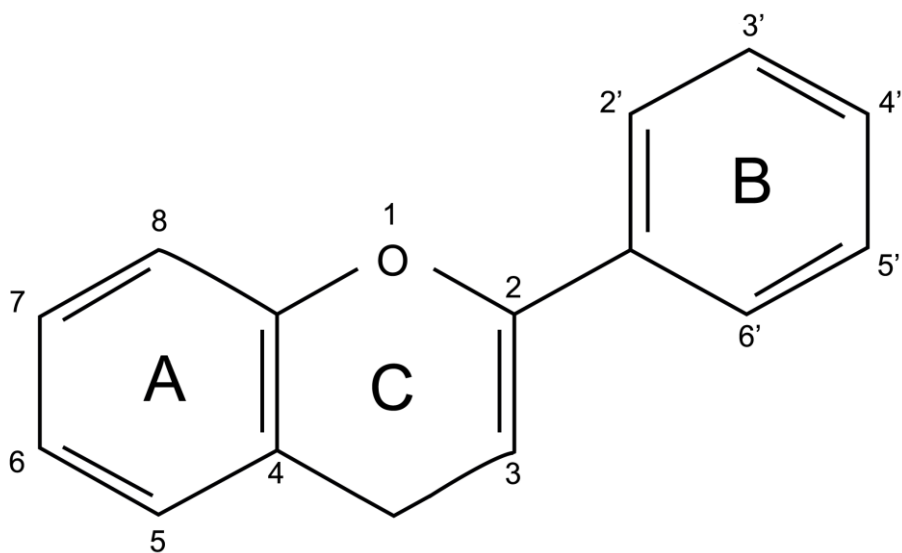
Son pigmentos naturales presentes en los vegetales, que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes como los rayos ultravioletas, la contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no es apto para producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. De forma natural están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan

componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana (Martínez-Flórez, 2002; Aherne, y col., 2002). Estos compuestos están también involucrados en mecanismos de foto sensibilización y de transferencia de energía, regulando así las reacciones de crecimiento, de control de la respiración, la fotosíntesis, la morfogénesis, la determinación sexual y la defensa contra infecciones (Cushnie, 2005).

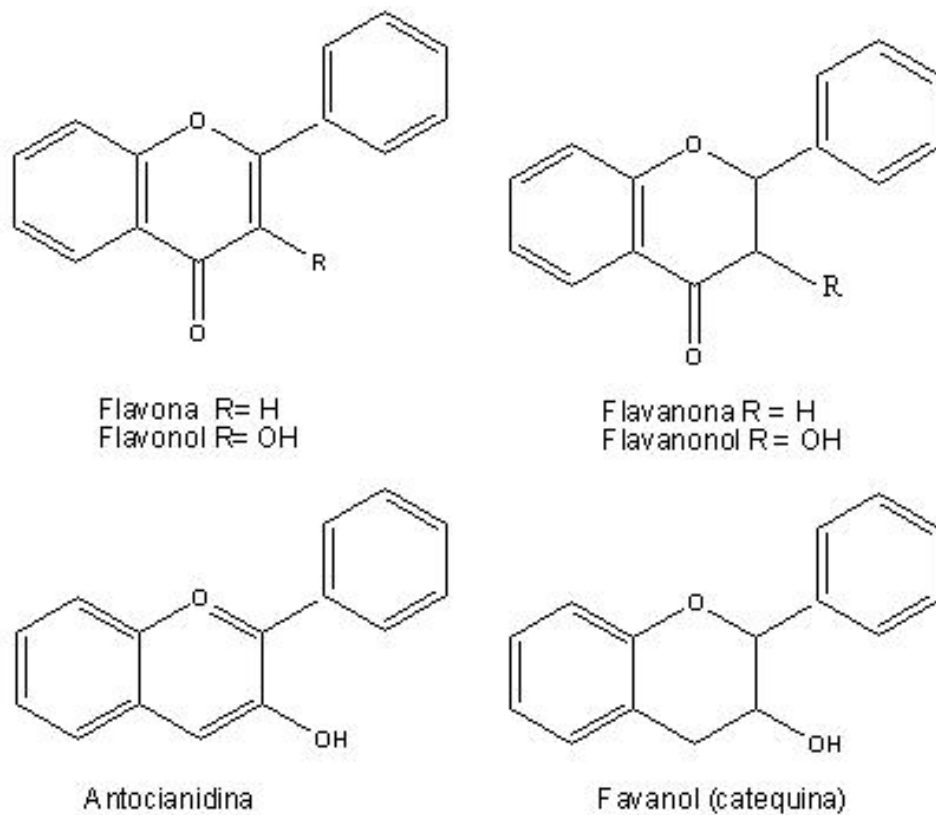
Químicamente, son compuestos de bajo peso molecular, polifenólicos derivados de la benzo- $\gamma$ -pirona los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal (López Luengo, 2002). Parten de un esqueleto común de difenilpiranos o fenilbenzo-pironas (C6-C3-C6), compuesto de dos anillos bencénicos (anillos A y B) unidos mediante un anillo heterocíclico de pirano o pirona (anillo C) (López y col., 2006). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8 y los anillos B desde el 2' al 6' (Figura 2). De acuerdo a los sustituyentes presentes en estas tres estructuras cíclicas, se subdividen en función de la presencia o ausencia de un doble enlace entre los carbonos 4 y 5 del anillo C, de la presencia o ausencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 del anillo C, y de la presencia de grupos hidroxilo en el anillo B (Narayana y col., 2001). Se han descrito más de 4000 distintos flavonoides (Bylka y col., 2004) que por sus diferencias químicas pueden clasificarse en seis grupos: flavonoles, flavanos, flavanonas, flavonas, flavanonoles y antocianidinas. (Figura 3) (Havsteen, 2002).

### **Origen Geográfico y Botánico de los Propóleos**

La biodiversidad de propóleos a nivel mundial es inmensa, en cada región se pueden encontrar diferentes compuestos, por ejemplo, en los propóleos europeos, se han encontrado flavanones, flavones, ácido fenólico y sus ésteres, así como ácido caféico, ácido ferúlico, los cuales se han recolectado en zonas templadas de los brotes de álamos (*populus nigra*) (Simões y col., 2004).



**Figura 2. Estructura química básica de los flavonoides.** Son compuestos fenólicos diaril-propánicos, es decir, su estructura es del tipo C6-C3-C6, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno. (López y col., 2006).



**Figura 3. Clasificación química de los flavonoides.** Se muestran las estructuras básicas de los seis grupos de flavonoides, dependiendo del radical que se añade a la estructura. (López Luengo, 2002).

En Brasil abundan la *Baccharis dracunculifolia*, los álamos y una mezcla de plantas tropicales y en sus propóleos han sido encontrados flavonoides (rutina, quercetin, galangina etc.) y éster fenetílico del ácido caféico (CAPE) (Simões y col., 2004).

Dentro de los propóleos de Cuba se han encontrado prenilados y benzopironas mayormente en aquellos que contienen resinas de *Clusia rosea* (Bankova 2005). En la región de Chile la flora predominante se compone de *Asteraceae*, *Anacardiaceae*, *Rosaceae*, *Rhamnaceae*, *Monimiaceae* y *Lauraceae* (Valcic y col., 1998). En los propóleos de Taiwán se encontraron prenilados y benzopironas (Bankova 2005).

La Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (S.A.R.H.) en México, divide al país en cuatro regiones apícolas determinadas por la diversidad de vegetación, clima, suelos, orografía y altitudes. Estas regiones son: **a) Zona centro.** Guanajuato, Querétaro, Estado de México, Morelos, Tlaxcala, Puebla y Distrito Federal. **b) Zona del pacífico.** Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Colima, Nayarit, y Sinaloa la constituyen. **c) Zona del sureste o peninsular.** Tabasco, Veracruz, Campeche, Yucatán y Quintana Roo. **d) Zona norte.** Baja California Norte y Sur, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Durango, Zacatecas, y Aguascalientes (S.A.H.R., 2004). En el estado de Campeche, las pruebas analíticas mostraron que los constituyentes de los propóleos son lactonas, flavonoides, fenoles y triterpenos (Tolosa y col., 2002).

Estudios recientes en México han encontrado la presencia de tres nuevos componentes (1-(3',4'-dihidroxi-2'-metoxifenil)-3-(fenil) propano, (Z)-1-(2'-metoxi-4',5'-dihidroxiopropil)-2-(3-fenil)propeno y 3-hidroxi-5,6-dimetoxiflavan) además de siete flavonones conocidos, isoflavonas y pterocarpanos. (Lotti y col., 2010).

En Sonora se han recolectados propóleos de las regiones de Caborca, Ures y Pueblo de Álamos en donde se encuentra una gran diversidad de plantas tales como *Olneya tesota*, *Prosopis velutina*, *Populus fremonti*, *Ambrosia deltoidea* entre otras. Los propóleos recolectado de estas regiones han sido estudiados e identificado por HPLC-MS permitiendo caracterizar 13 compuestos entre los más abundantes



constituyentes son: pinocembrina, 3-O-acetato de pinobanksina, Crisina y galangina (Figura 4) (Tabla I) (Hernández y col., 2007).

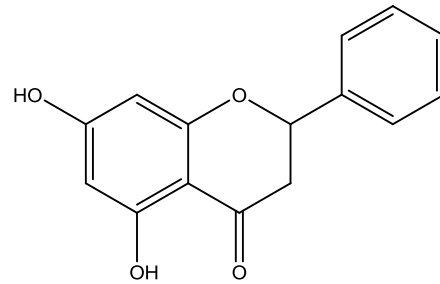
### **Actividad Biológica de los Propóleos**

Debido a la gran cantidad de flavonoides contenidos en los propóleos, se les atribuyen un amplio espectro de actividades biológicas: Antifúngica (*Candida albicans*), antiviral (Virus de *avian influenza*), y antibacteriana (*Staphilococcus aureusy Escherichia coli*), antiinflamatoria, inmunomoduladora, antioxidante, anticancerígena (Paulino y col., 2003; Uzel y col., 2005; Hernández y col., 2007) y antiparasitaria (Barbosa da Silva-Cunha y col., 2004). Este conocimiento ha servido como piedra angular para el desarrollo de investigaciones a nivel mundial que buscan conocer más acerca de sus propiedades curativas.

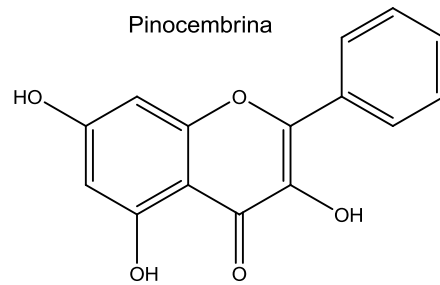
Ensayos realizados en Bulgaria han reportado los efectos de los extractos etanólicos de esa región como analgésicos, antiinflamatorios (Paulino y col., 2003) y antiparasitarios (Machado y col., 2007).

Los propóleos alemanes fueron probados en quemaduras, heridas y problemas de artritis (Hellner y col., 2008). En Turquía fueron evaluadas la actividad antimicrobiana (*K.pneumonia, M .morganii*) y antifúngica (*C. albicans*) (Katircioglu y col., 2006).

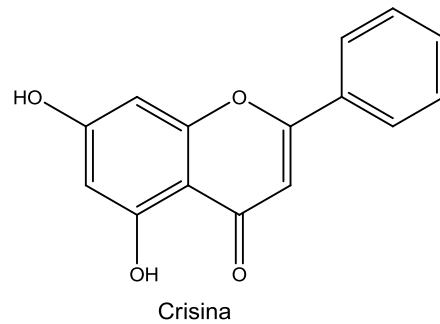
En Egipto, los propóleos regionales han sido provados como antivirales, antimicrobianos y antioxidantes (Faten, y col., 200; Hegazi y col., 2002). Los extractos taiwaneses mostraron actividad como citotóxicos (Chen y col., 2003). Esta misma actividad se ha estudiado en Cuba, utilizando células HeLa de carcinoma humano de cérvix (Cuesta-Rubio y col., 2001).



Pinocembrina



Galengina



Crisina

**Figura 4. Compuestos más abundantes recolectados en la región de Sonora.** Los compuestos fueron identificados por HPLC-MS: Pinocembrina, 3-O-acetato de pinobanksina, crisina y galangina.

**Tabla I.** Principales compuestos de los propóleos sonorenses identificados mediante HPLC (Hernández y col., 2007).

No. de Pico	Tiempo de Retención (min)	Compuesto	Propóleos		
			PU	PPA	PC
1	10.8	$\lambda$ 296,344 nm <sup>a</sup>	-	-	+
2	13.7	$\lambda$ 290,340 nm <sup>a</sup>	-	-	+
3	20.5	$\lambda$ 258,292 nm <sup>a</sup>	-	-	+
4	22.1	Rutina	-	+	-
5	27.1	$\lambda$ 274,294, 324 nm <sup>a</sup>	+	-	-
6	29.8	Pinobanksina	+	+	+
7	30.9	Naringenina	-	+	-
8	33.1	Hesperetina	-	+	-
9	36.0	$\lambda$ 260, 290, 334 nm <sup>a</sup>	-	+	-
10	37.0	$\lambda$ 256,292 nm <sup>a</sup>	-	+	-
11	42.2	3'-demethoxysudachitin	-	-	+
12	43.3	$\lambda$ 236, 266, 310, 346 nm <sup>a</sup>	+	-	-
13	43.9	$\lambda$ 296,344 nm <sup>a</sup>	-	-	+
14	44.3	$\lambda$ 266,296, 350 nm <sup>a</sup>	+	+	-
15	45.9	$\lambda$ 254,270, 288, 256 nm <sup>a</sup>	-	+	-
16	46.7	Pinocembrina	+	+	+
17	48.6	3-Acetato de Pinobanksina	+	+	+
18	52.3	Caféico	+	-	-
19	53.0	Xantomicrol	-	+	+
20	54.0	Crisina	+	+	+
21	55.0	Galangina	+	+	+
22	57.1	Acecetina	+	+	-
23	58.2	$\lambda$ 240,288, 226 nm <sup>a</sup>	-	+	-
24	60.2	$\lambda$ 294,340 nm <sup>a</sup>	+	+	+
25	61.5	$\lambda$ 294,312 nm <sup>a</sup>	+	-	+
26	66.5	$\lambda$ 292,340 nm <sup>a</sup>	+	+	+

<sup>a</sup> Compuestos no identificados. Se presenta solo su máximo de absorción en el espectro UV.

(+) Presente pero no cuantificado

(-) No detectado

En las regiones templadas de Chile central, se investigó la actividad antioxidante y antiproliferativa en donde la muestra de propóleo demostró la capacidad de eliminar radicales libres e inhibir el crecimiento de células tumorales (Russo y col., 2004).

En Argentina es utilizado para prevenir problemas bucales y gastrointestinales al mezclarlo con un poco de miel y leche y también como antimicrobiano principalmente contra *S. aureus* y *E. faecalis* (Moreno y col., 1999).

En Brasil se ha estudiado su actividad citotóxica (Banskota y col., 1998), antibacterial (Santos y col., 2002) y antioxidante (Teixeira y col., 2008). Brasil se destaca por tener una amplia biodiversidad en su territorio lo cual permite tener una variedad de propóleos. Los extractos brasileños son clasificados como verdes y rojos siendo los verdes, los que cuentan con mayor preferencia en el mercado debido a su alta actividad biológica. Los extractos brasileños verdes son recolectados de las especies *Baccharis dracunculifolia*, *Araucariaangustifolia* y *eucalyptus citriodora* (Salatino y col., 2005)

En el estado de Campeche, en México, se ha evaluado la actividad microbicida de los propóleos regionales contra *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* y *S. typhi* (Tolosa y col., 2002). En el estado de Campeche, en México, se ha evaluado la actividad microbicida de los propóleos regionales contra *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* y *S. typhi* (Tolosa y col., 2002). En Sonora se ha evaluado su actividad como agente antiproliferativo en el modelo murino, anticancerígeno en líneas celulares humanas, su capacidad para inducir apoptosis (Hernández y col., 2007), su actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, y también se determinó que los extractos de esta región poseen una fuerte actividad antioxidante (Velázquez y col., 2007).

El esquema realizado por Bankova en el 2005 donde se hace referencia a los principales compuestos de propóleos y sus actividades biológicas, ha sido modificado con el fin de añadir los resultados obtenidos de estudios realizados en Sonora y hacer

una comparación de las actividades biológicas que tienen los propóleos sonorenses a las del mundo, con el fin de abrir nuevos campos de investigación (Tabla II).

### **Actividad Antiparasitaria de los Extractos de Propóleos**

En Egipto, un grupo de investigadores utilizó extracto de propóleos contra *Schistosoma mansoni* en estudios *in vivo* con ratones albinos; se administraron dosis de 250 mg/kg/día las cuales redujeron en un 58.5% la proliferación de los parásitos (Ragaa, 2007).

En Adana, Turquía, se investigaron los efectos de un extracto etanólico sobre el crecimiento *in vitro* de *Leishmania trópica*, se determinó que las concentraciones estadísticamente significativas eran de 250, 500, y 750 µg/ml. Después de comparar con el grupo control ( $p < 0.05$ ), los resultados demostraron que el extracto etanólico de Adana reduce la proliferación de forma significativa de *L. trópica* (Duran G. y col. 2008). La *Leishmania*, causa manifestaciones clínicas como úlceras en la piel, inflamación al hígado y bazo, desnutrición, anemia e incluso la muerte, afecta a casi 12 millones de personas en 88 países del mundo tanto en regiones tropicales como subtropicales. No hay vacunas y los tratamientos son largos y muy costosos por lo que los propóleos representan una buena alternativa a considerar (Machado y col., 2007). Los propóleos de Brasil y Bulgaria fueron evaluados contra este mismo parásito (*L. major*, *L. amazonas*, *L. braziliensis*, *L. chagasi*). El ensayo se realizó de manera *in vitro* en placas de 96 pozos, con una incubación de 26 °C y un tiempo de monitoreo a las 24 horas en concentraciones de 0.5 a 500 µg/mL.

Los resultados de este estudio demostraron que los extractos de Bulgaria tienen un potencial de inhibición mayor que los de Brasil, esto, atribuido a la mayor cantidad de flavonoides contenida en los extractos de Bulgaria (Kumasawa y col., 2003; Machado y col., 2007).

**Tabla II. Principales actividades biológicas y componentes de propóleos en el mundo.**

Actividad	Propóleos			
	Europa	Brasil	Cuba	México/Sonora
Antibacteriana (ab)	Flavononas, flavonas, ácidos fenólicos y sus ésteres	Ácido p-cumárico prenilado, diterpenos	Benzofenonas preniladas	Éster Fenetílico del ácido caféico (CAPE)
Antiinflamatoria (ai)	Flavononas, flavonas, ácidos fenólicos y sus ésteres.	No identificados	No evaluado	No evaluado
Anticancerígena (ac)	CAPE	Ácido p-cumárico prenilado, diterpenos, benzofuranos	Benzofenonas preniladas	CAPE, xanthomicrol, galangina, acacentina crisina
Antioxidante (ao)	Flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres	Ácidos p-cumárico prenilados, flavonoides	No evaluado	Rutina, CAPE Galangina, Uresin
Antiproliferativa (ap)	Galangina, flavonoides y ácido cinámico	No evaluado	No evaluado	Pinocembrina, 3-oac-pinobankcina crisina (uresin)
Antimicrobiana (am)	Flavonoides	Prenilados y benzopironas	Isoflavonoides	Pinocembrina
Antiparasitaria (ap)	No evaluado	Fenil propanoindes-prenilados, Pinobakcina CAPE	No evaluado	No evaluado

Modificado de Bankova, 2005.

\*Europa ap (Banskota y col., 2002) (Bestwick y col., 2006) am (Pavilionis, y col., 2008)

\*Brasil am (Castro y col., 2009)

\*Cuba am (Rubio, y col., 1999)

Investigadores de Brasil evaluaron el uso de extractos de propóleo contra *Trypanosoma cruzi*, causante de la Enfermedad de Chagas, patología endémica en Latinoamérica con cerca de 16 millones de casos reportados; los resultados de esta investigación podrían ofrecer una alternativa profiláctica para esta enfermedad. Se realizó una evaluación *in vitro* donde fueron utilizados 15 extractos metanólicos de propóleos de la región. El extracto 136-Et100 presentó la mayor bioactividad contra *T. cruzi* siendo comparado con: 110-Et100, 12-Et100, 118-Et100, 124-Et100 y 125-Et100 (Barbosa da Silva-Cunha y col., 2004).

En Bulgaria fueron administrados extractos etanólicos (Et-Blg) por vía oral en dosis de 25 a 100 mg/kg a ratones de experimentación (suizos) infectados por *T. cruzi*, el tratamiento con 50 mg de Et-Blg/kg de peso corporal / día, dio lugar a una disminución en la proliferación de los parásitos sin ocasionar efectos secundarios sobre el ratón (Dantas y col., 2005).

Adicionalmente, los propóleos de Brasil fueron evaluados contra trofozoítos de *G. lamblia* con respecto a su adherencia y crecimiento *in vitro*. La investigación reporta una disminución en la adherencia a la superficie del tubo y así, mismo la proliferación celular (Freitas y col., 2004).

La giardiasis es considerada como un problema de salud a nivel mundial, afecta a casi 280 millones de personas, y predomina en los países subdesarrollados y en vías de desarrollo, donde las infecciones se encuentran asociadas a las malas condiciones sanitarias. La giardiasis causa enfermedades diarreicas y puede transmitirse a través del contacto fecal-oral y a través del agua contaminada por las heces, puede afectar a cualquiera sin embargo, es más común en niños pequeños, adultos de 20 a 40 años de edad, y viajeros.

La prevalencia de giardiasis en México, oscila entre 7.4-68.5 % (SSA, 2010). Según el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENEVACE), durante el mes de enero de 2010, el estado de Sinaloa presentó el

primer lugar de giardiasis a nivel nacional, seguido por el Distrito Federal, Chiapas, Estado de México, Oaxaca y Sonora.

Tomando en cuenta la prevalencia de giardiasis en el estado y los resultados obtenidos en estudios similares en Brasil, se han procesado propóleos provenientes de las regiones de Caborca, Ures y Pueblo de Álamos, Sonora, México, como extractos metanólicos, para ser evaluar su actividad antiproliferativa *in vitro* sobre los trofozoítos de *G. lamblia*.

## **Giardiasis**

### **Aspectos Clínicos**

*G. lamblia* es un protozooario binucleado y flagelado comúnmente identificado en el tracto gastrointestinal del ser humano y otros mamíferos. Es considerado el agente causal de la giardiasis intestinal, enfermedad cosmopolita que puede presentarse de forma asintomática, aguda o crónica. Generalmente presenta manifestaciones gastrointestinales asociadas a diarreas crónicas y mala absorción (Lujan 2006) Se presenta tanto en los países desarrollados como en los subdesarrollados y en vías de desarrollo, afecta a alrededor de 280 millones de personas a nivel mundial y se reportan 500,000 nuevos casos sintomáticos cada año (WHO, 1996) afectando principalmente a los viajeros y a la población infantil, siendo esta ultima la más vulnerable (Lane y col., 2002; Ali y col., 2003; Ankarkle y col., 2010).

La prevalencia de giardiasis en México varía dependiendo de la región pero se encuentra entre 7.4 % y 68.5 %, la variabilidad se encuentra directamente relacionada con las condiciones sanitarias y socioeconómicas de la región (Uribarren, 2010) (SSA, 2010). En el estado de Sonora, diversos estudios han informado de la presencia de infecciones por *G. lamblia*, tanto en población urbana como rural. Uno de los vectores evaluados en esta región ha sido el agua para consumo humano, encontrándose



concentraciones de 5 quistes/mL en la ciudad de Hermosillo y de 17 quistes/mL en la de Ciudad Obregón (Díaz y col., 2002). Según la Dirección de Epidemiología de la Secretaría de Salud, Sonora ocupa actualmente uno de los primeros lugares a nivel nacional (SSA, 2010).

### **Taxonomía**

Este flagelado fue el primer protozoo humano observado al microscopio; visto por primera vez en 1681 por el científico holandés Anton van Leeuwenhoek quien lo encontró observando sus propias heces. En 1859 Vilém Lambl lo denominó como *Cercomonas intestinalis*; sin embargo, fue el parasitólogo norteamericano Charles Wardell Stiles quien, en el año de 1915, propuso la denominación *G. lamblia*, en honor al profesor A. Giard de Paris y del doctor V. Lambl de Praga (Adam, 2001).

Se han descrito alrededor de 40 especies de *Giardia*, en las que la clasificación depende del tipo de huésped que infecta. Vilem Lambl publicó una detallada descripción morfológica y propuso tres especies de *Giardia* basado en las diferencias de los cuerpos medianos que eran identificables por el microscopio óptico. Existen dos especies adicionales que son indistinguibles de *G. lamblia* por el microscopio de luz: *G. ardeae* (de garzas) y *G. psittaci* (de pericos), pero que han sido identificadas a partir de las diferencias morfológicas en estudios por microscopía electrónica. Otra especie, *G. microti*, ha sido descrita a partir de la especificidad de hospederos en ciertas especies de roedores (*Microtus* spp. y *Ondatra zibethicus*), las diferencias entre los quistes por microscopía electrónica (Adam, 2001) y en las secuencias de la pequeña subunidad ribosomal 18S comparandose con *G. lamblia* de origen humano (van Keulen y col., 2002).

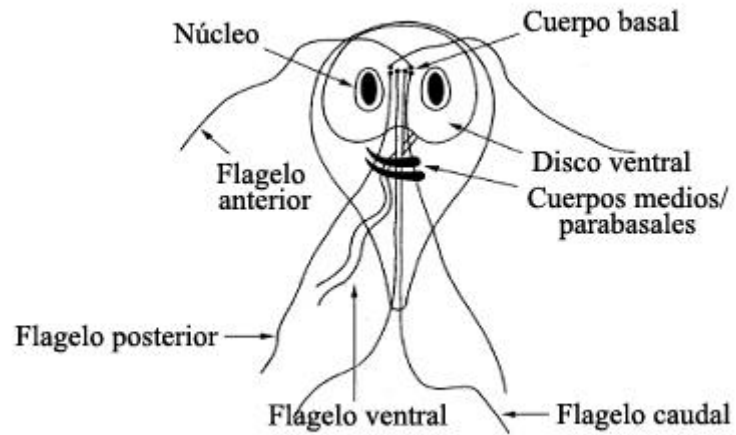
*G. lamblia* ha sido ubicado taxonómicamente según la clasificación ampliamente aceptada de Levine (1980), como se refiere a continuación:

- Reino: *Protista*.
- Subreino: *Protozoa*.
- Phylum: *Sarcomastigophora*.
- Subphylum: *Mastigophora*.
- Clase: *Zoomastigophorea*.
- Orden: *Diplomonadida*.
- Familia: *Hexamitidae*.
- Género: *Giardia*.
- Especie: *lamblia*.

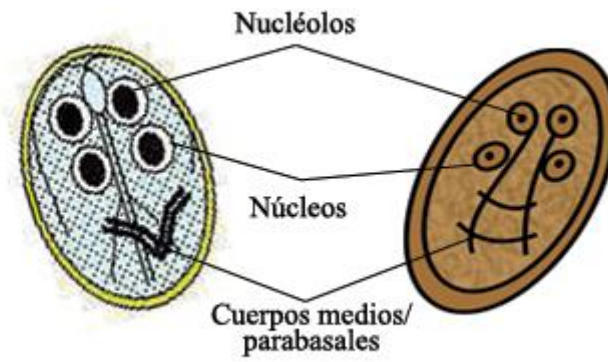
En tiempos recientes, la taxonomía de los protozoos parásitos propios del hombre ha sufrido importantes modificaciones, pues los flagelados, que antes se clasificaban en un sólo phylum: *Sarcomastigophora*, ahora se dividen en cuatro phylla: *Parabasalia*, *Percolozoa*, *Euglenozoa* y *Metamonoda*. La especie *G. lamblia* se ubica precisamente en este último phylum, *Metamonoda* (Nuñez 2004).

### **Morfología**

*G. lamblia* tiene dos estadios: 1) El trofozoíto (forma vegetativa) cuyo hábitat es el intestino delgado donde actúa como agente causal de manifestaciones gastrointestinales y 2) el quiste, una forma resistente al medio externo y responsable de la propagación del parásito (Figuras 5 y 6).



**Figura 5. Trofozoíto de *G. lamblia*.** Las flechas señalan los elementos que conforman el trofozoíto: Núcleo, cuerpo basal, flagelos, disco ventral y cuerpos medios. Tomado y traducido de Faubert, G., 2000.



**Figura 6. Quiste de *G. lamblia*.** Comparación esquemática de un quiste de *G. lamblia*, basado en *American Society of Microbiology* (<http://www.microbelibrary.org>)

Los quistes poseen una forma ligeramente ovalada, miden de 8 a 14  $\mu\text{m}$  de largo por 5 a 8  $\mu\text{m}$  de ancho. Posee un citoplasma granular fino rodeado por una pared quística de 0.3  $\mu\text{m}$  de un espesor que lo mantiene adosado a la membrana plasmática del parásito. La pared del quiste es retráctil y en su porción externa presenta una estructura fibrilar compuesta por 7 a 20 filamentos, la porción interna es membranosa y ambas están separadas por el espacio periplásmico.

Estudios por espectrometría de masas, cromatografía gaseosa y análisis enzimático de la pared del quiste, revelan que el azúcar mayoritario es la galactosamina en forma de N- acetilgalactosamina (GalNAc) (Adam, 2001; Lujan 2009). Se han observado axonemas y cuerpos medios en el citoplasma del quiste; en ejemplares inmaduros o recién formados se pueden encontrar dos núcleos mientras que los quistes maduros son tetra nucleados. Tanto en el caso de quistes recién formados como en los maduros se aprecia ausencia de mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplásmico rugoso (Adam, 2001; Ankarklev y col., 2010). Los quistes, tienen la capacidad de mantenerse viables por periodos considerables de tiempo en condiciones ambientales normales y aún más expuestos a bajas temperaturas; tienen un alto grado de resistencia a los procedimientos de cloración y de ahí la gran habilidad de este parásito para mantenerse vivo y producir grandes epidemias originadas por el consumo de agua contaminada (Adam, 2001).

El trofozoíto posee una estructura piriforme, mide de 10 a 12  $\mu\text{m}$  de largo por 5 a 7  $\mu\text{m}$  de ancho, es convexo dorsalmente y con una concavidad ventral en la cual se encuentra el disco succionario o ventral. Posee cuatro pares de flagelos: dos anterolaterales y dos posterolaterales, dos ventrales y un par caudal, todos tienen su origen en ocho cuerpos parabasales colocados simétricamente en la línea media a la altura del borde superior de los dos núcleos idénticos (ambos ovoides y con el endosoma central bien diferenciado). (Adam, 2001).

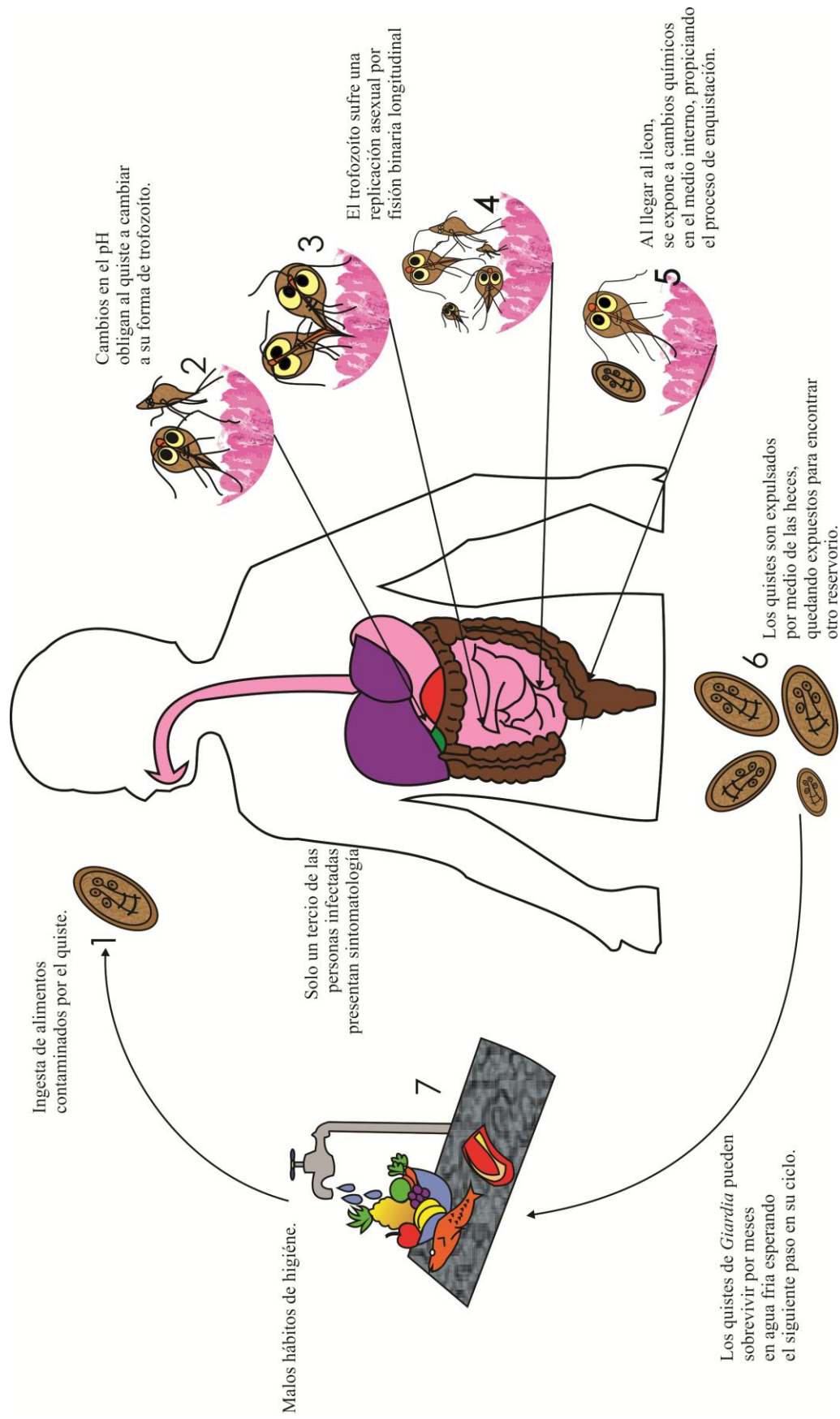
Estos protozoos contienen cinco cromosomas y son poliploides y estructuras como las mitocondrias, el retículo endoplásmico rugoso y los nucléolos no han sido identificadas en ellos, lo que conforma la hipótesis de que este microorganismo evoluciono a partir de un eucariota primitivo (Adam, 2001). Su metabolismo anaerobio similar al de los procariotas hace que sea sensibles a algunos fármacos antibacterianos que actúan mediante la activación de radicales tóxicos, como es el caso de los nitroimidazoles (Upcroft y col., 2006).

### **Ciclo de Vida**

La infección por *G. lamblia* ocurre por la ingesta de quistes contenidos en agua contaminada, por contacto directo de persona a persona o por higiene deficiente (transmisión fecal-oral). La transmisión por alimentos es menos común. En estudios de laboratorio se ha demostrado que la infección puede establecerse con tan solo 10 quistes (Lauwaet y col., 2007). El ciclo de vida está compuesto de dos estadios fundamentales: el quiste y el trofozoíto (estado vegetativo) (Figura 7).

Los quistes ingeridos llegan hasta el estómago y debido al contenido ácido del estómago se ven forzados a liberarse de la pared del quiste y emergen como trofozoítos, los cuales se replican de forma asexual por fisión binaria longitudinal. Los trofozoítos, colonizan el intestino delgado superior y se adhieren a la superficie del epitelio intestinal mediante su disco ventral o de adhesión (Lujan, 2006)

El cambio de pH, la disminución del colesterol, la adición de sales biliares y ácidos gástricos por parte del huésped, preparan al trofozoíto para la formación del quiste (enquistación) provocando cambios morfológicos y bioquímicos importantes, permitiendo una producción subsecuente de organelos (secretorios, de síntesis, de empaque, transporte y liberación de materiales) necesarios para la construcción de la



**Figura 7. Ciclo biológico de *G. lamblia*.**

pared quística (Adam, 2001) (Lujan, 2006; Prucca y col., 2009). Este proceso es llevado a cabo en el colon, donde se retraen los flagelos en los axonemas, el citoplasma se condensa y se liberan las proteínas necesarias para la construcción del quiste. Los quistes son expulsados del huésped a través de las heces, éstos representarán una amenaza potencial de infección para un nuevo huésped ya sea de forma inmediata por contacto fecal-oral o a largo plazo mientras se mantiene en el medio externo en su forma de quiste listo para iniciar un nuevo ciclo de infección (Adam, 2001; Lujan, 2006; Prucca y col., 2009).

### **Sintomatología y Patogenia**

Las manifestaciones clínicas de la giardiasis son muy variadas e inespecíficas: dolor abdominal, náusea, vómito, en algunos casos, se puede presentar diarrea severa, estados de malnutrición y pérdida de peso, sin embargo, un alto porcentaje de personas cursan con giardiasis de forma asintomática (Adam, 2001; Syed, y col., 2003; Prucca y col., 2009). Los síntomas regularmente se presentan entre los 6-15 días después de la infección. En más del 85 % de los pacientes que cursan con giardiasis, la infección es un proceso autolimitado, indicando que el hospedero cuenta con mecanismos de defensa efectivos contra este parásito (Eckmann y col., 2001).

Los factores que podrían contribuir a la variabilidad de manifestaciones clínicas de la giardiasis incluyen la carga parasitaria ingerida, la virulencia de la cepa de *G. lamblia*, la edad del hospedero así como el estado de inmunocompetencia del mismo al momento de la infección (Faubert, 2000). En los casos sintomáticos, se ha observado aplanamiento de las microvellosidades intestinales, infiltración linfocitaria y malabsorción. En ocasiones, este acortamiento de las microvellosidades simula al presente en la enfermedad celíaca, sobre todo en individuos con hipogammaglobulinemia; sin embargo, no se ha observado invasión hística y a veces se



encuentra un gran número de trofozoítos en las criptas duodenales sin evidencias de trastornos patológicos (Núñez, 2004).

Otros mecanismos propuestos que podrían afectar la variabilidad de síntomas incluyen la disrupción del borde en cepillo causada por procesos inmunopatológicos, además, se plantea la interferencia mecánica por efecto de tapizado, que pueden producir los trofozoítos adheridos al duodeno, acompañados de la inflamación consecuente (Núñez, 2004). El papel protector de la microflora puede estar relacionado con la competencia por sustratos nutricionales, la competencia específica por sitios receptores en la mucosa intestinal, la producción de compuestos antimicrobianos y metabólicos que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos, y la amplificación de la respuesta inmune (Nash, 2002; Núñez, 2004).

## **Tratamiento**

Actualmente los medicamentos más utilizados en el tratamiento de la giardiasis son los derivados de los 5-nitroimidazoles como: Tinidazol, ornidazol, secnidazol y nitazoxanida, así mismo el **metronidazol**; estos grupos de medicamentos presentan serios efectos secundarios que han motivado la búsqueda de tratamientos alternativos a esta parasitosis. Los benzimidazoles tales como el **albendazol** y mebendazol se han utilizado en cultivos de trofozoítos de *G. lamblia* reportando escasos efectos colaterales (Villalobos y col., 2001). Existen trabajos publicados donde el albendazol ha sido evaluado como anti giardiasico en guarderías y preescolares siendo administrado en dosis de 400 mg diarios durante tres a cinco días, demostrando una eficacia que va del 30 % al 97 % (Rodríguez-García y col., 1996). Las alteraciones encontradas en estudios *in vitro* por efecto del albendazol en los trofozoítos incluyen inhibición del crecimiento y la producción de grandes cambios morfológicos que ocasionan desprendimiento total de la pared del tubo de cultivo y por lo tanto pérdida de la viabilidad (Mayer y col., 2005). En estudios por microscopia de barrido se ha observado que este fármaco provoca

alteraciones importantes y grotescas en la forma celular del trofozoíto así como en el disco adhesivo. La observación al microscopio electrónico de transmisión muestra diversos grados de fragmentación del disco adhesivo, con una dispersión de los microtúbulos y de las microcintas en el citoplasma. El efecto de los benzimidazoles se debe entonces a las alteraciones que provocan en el citoesqueleto uniéndose a los microtúbulos cuyo componente principal es la  $\beta$ -tubulina (Mayer y col., 2005).

Otro fármaco que se ha sido utilizado en el tratamiento de la giardiasis es la cloroquina, tanto en estudios *in vitro* como en casos clínicos, mostrando buenos resultados pero estando solamente indicada por la FDA para tratamientos donde este contraindicado el metronidazol u otro nitroimidazol o cuando no se disponga de ellos (Brunton y col., 2009).

Dentro de las opciones terapéuticas potenciales se incluyen las combinaciones de intervenciones nutricionales y fitoterapia (Hawrelak., 2003) permitiéndonos tener en cuenta los efectos colaterales de algunos medicamentos y la posible presencia de cepas resistentes a los fármacos más utilizados (Upcroft y col., 2006). Se entiende pues, que el consumo de algunos productos fitoterapéuticos podría presentarse como una alternativa útil a aquellos fármacos con importantes efectos nocivos o tóxicos y que son utilizados tradicionalmente para mejorar los síntomas y eliminar la infección (Hawrelak 2003).

En la actualidad se profundizan los estudios en los productos de origen natural como los propóleos con el fin de buscar compuestos, fracciones eficaces, con pocas reacciones colaterales y que puedan, ser efectivas en dosis únicas.