

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



Casa abierta al tiempo

EVALUACIÓN CLÍNICA DE UN EXTRACTO ESTANDARIZADO DE *Ageratina pichinchensis* (Kunth) R.M. King & Ho. Rob. (Asteraceae) COMO TRATAMIENTO DE LA ONICOMICOSIS LEVE Y MODERADA

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

M. S. P. OFELIA ROMERO CERECERO

Directores de tesis:

DR. RUBÉN ROMÁN RAMOS

DR. JAIME TORTORIELLO GARCÍA

Asesor de tesis

DR. JESÚS ENRIQUE JIMÉNEZ FERRER

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE DE 2009

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTORES DE TESIS

DR. RUBÉN ROMÁN RAMOS

**Profesor Titular, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II**

DR. JAIME TORTORIELLO GARCÍA

**Investigador Titular, Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II**

ASESOR

DR. JESÚS ENRIQUE JIMÉNEZ FERRER

**Investigador Asociado D, Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I**

El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93

La alumna del Doctorado en Ciencias Biológicas de la
Universidad Autónoma Metropolitana

Ofelia Romero Cerecero, recibió beca del CONACYT
de octubre de 2007 a noviembre 2009

Registro 217767

Para el desarrollo de la presente tesis se contó con el
apoyo del Instituto Mexicano del Seguro Social

Registro IMSS-FOFOI 2006/1A/076

y del CONACYT

Registro CONACYT-Salud 2007-CO1-71029

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas
y de la Salud de las Unidades Iztapalapa y Xochimilco aprobó la

Tesis

que

Presentó:

M.S.P. OFELIA ROMERO CERECERO

El día 26 de noviembre del 2009

Sinodales:

Dr. Rubén Román Ramos (Presidente)

Dra. María Gabriela Rojas Bribiesca (Secretaria)

Dr. Jaime Tortoriello García (Vocal I)

Dr. Federico Rivas Vilchis (Vocal II)

Dr. Jesús Enrique Jiménez Ferrer (Vocal III)

Dra. Reyna Fierro Pastrana (Comisión del Doctorado)

La presente investigación se realizó en:



Laboratorio de Fitofarmacología del Centro de
Investigación Biomédica del Sur del Instituto Mexicano del
Seguro Social, Xochitepec Morelos.

Hospital General de Zona No. 1 Instituto Mexicano del Seguro
Social, Cuernavaca Morelos.



Laboratorio de Farmacología del Departamento
de Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de
la Salud,

CONTENIDO

RELACIÓN DE ABREVIATURAS	1
RELACIÓN DE FIGURAS	2
RELACIÓN DE TABLAS	3
RESUMEN	4
SUMMARY	6
I. INTRODUCCIÓN	7
II. ANTECEDENTES	9
a. Aspectos generales de las micosis	9
b. Dermatofitosis	9
c. Las micosis: patogenicidad y patogenia	10
d. Formas de proliferación de los hongos	11
e. Formas de reproducción de los hongos	11
f. Onicomicosis o <i>tinea unguium</i>	12
1. Definición	12
2. Signos y síntomas	12
3. Anatomía de la uña	13
4. Histología de la uña	13
5. Epidemiología de la onicomicosis	14
6. Formas clínicas de lo onicomicosis	15
7. Factores predisponentes para desarrollar onicomicosis	15
8. Agente causal de la onicomiscosis	16

9. Diagnóstico clínico y micológico de la onicomicosis	17
10. Diagnóstico diferencial de la onicomicosis	18
11. Tratamientos disponibles para el manejo de la onicomicosis	18
12. Ventajas y desventajas de los antifúngicos de uso tópico	20
13. Tratamiento sistémico	20
g. Antecedentes del tratamiento control (ciclopirox)	22
h. Antecedentes del tratamiento experimental	23
1. Biotecnología	25
2. Estudios clínicos	26
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	28
a. Pregunta general de investigación	28
b. Preguntas específicas de investigación	28
V. JUSTIFICACIÓN	29
VI. HIPÓTESIS	30
VII. OBJETIVOS	31
a. Objetivo general	31
b. Objetivos específicos	31
VIII. MATERIAL, SUJETOS Y MÉTODOS	32
a. Obtención del material vegetal y preparación del extracto	32
b. Decoloración del extracto	32
c. Estandarización del extracto de <i>A. pichinchensis</i>	33

d. Formulación de fitomedicamento para la administración tópica	33
e. Preparación del medicamento control	34
f. Evaluación de la efectividad y tolerabilidad terapéutica del fitomedicamento que contiene <i>A. pichinchensis</i> a diferentes concentraciones	34
1. Grupos de estudio	35
1.1 Grupos experimentales	35
1.2 Grupo control	35
2. Criterios de selección	35
II.1 Criterios de inclusión	35
II.2 Criterios de no inclusión	36
II.3 Criterios de eliminación	36
3. Descripción general del estudio	36
4. Tamaño de la muestra	38
5. Variables	38
5.1 Variables independientes	38
5.2 Variables de desenlace primarias	38
5.3 Variables de desenlace secundarias	39
6. Análisis de datos	39
7. Examen directo observación microscópica de las muestras de las uñas	40
8. Cultivo micológico	40
9. Aspectos éticos	41
IX. RESULTADOS	42
a. Identificación del compuesto activo	42
b. Obtención de un fitomedicamento	42
c. Obtención de un medicamento control	43
d. Efectividad y tolerabilidad terapéutica en pacientes con onicomycosis leve y moderada	44

X. DISCUSIÓN	53
XI. CONCLUSIÓN	57
XII. BIBLIOGRAFÍA	58
XIII. ANEXO I	69

RELACIÓN DE ABREVIATURAS

SIDA	síndrome de inmunodeficiencia adquirida
VIH	virus de inmunodeficiencia adquirida
DM2	diabetes mellitus tipo dos
OSLD	onicomicosis subungueal lateral y distal
OSP	onicomicosis subungueal proximal
OS	onicomicosis superficial
ODT	onicomicosis distrófica total
KOH	hidróxido de potasio
ADN	ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
INHAM	Herbario del Instituto Nacional de Antropología e Historia
CMI	concentración mínima inhibitoria
RMN'H	resonancia magnética nuclear protónica
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
Rf	factor de referencia
HGR No.1 c/MF	Hospital General Regional No.1 con Medicina Familiar
CLIS	Comité Local de Investigación

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía de la especie <i>A. pichinchensis</i> , en la etapa de floración, capturada en su hábitat natural	24
Figura 2. Producción del material vegetal	26
Figura 3. Cultivo controlado de <i>A. pichinchensis</i>	26
Figura 4. Estructura química de la enecalina	42
Figura 5. Fitomedicamento que contiene extracto estandarizado de <i>A. pichinchensis</i> en una formulación en laca para su administración local en las uñas	43
Figura 6. Medicamento control (elaborado con ciclopirox al 8%) en una presentación idéntica al tratamiento experimental	43
Figura 7. Severidad del cuadro clínico de onicomycosis entre los grupos de estudio al inicio del tratamiento	49

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de género y especies de dermatofitos	10
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Ageratina pichinchensis</i>	24
Tabla 3. Características personales y sociodemográficas de los pacientes incluidos en el estudio	44
Tabla 4. Antecedentes patológicos, familiares y del padecimiento de los pacientes incluidos en el estudio	45
Tabla 5. Frecuencia y porcentaje del tiempo de evolución de la Onicomycosis en los pacientes que participaron en el estudio	47
Tabla 6. Número de uñas afectadas en los pacientes al ingresar al estudio	48
Tabla 7. Frecuencia y porcentaje del número de uñas afectadas con onicomycosis leve y moderada al final del tratamiento con dos diferentes concentraciones del extracto estandarizado de <i>A. pichinchensis</i> y con el tratamiento control	50
Tabla 8. Severidad del cuadro clínico de pacientes con onicomycosis Incluidos en el estudio después de seis meses de tratamiento	51

RESUMEN

La onicomycosis es una enfermedad de las uñas que, debido a las características histológicas del tejido y a la cronicidad del padecimiento, representa un reto terapéutico. En México, las dermatomycosis se encuentran dentro de las 20 primeras causas de consulta. La especie *Ageratina pichinchensis*, conocida popularmente como “axihuitl”, ha sido utilizada en la medicina tradicional mexicana como antifúngico. Los terapeutas tradicionales utilizan las partes aéreas de la planta, las cuáles se maceran en alcohol etílico durante dos o tres días y se aplica con un algodón sobre las lesiones. De un extracto orgánico de baja a mediana polaridad se aisló un compuesto químico que mostró una importante actividad antimicótica que fue identificado como encecalina. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la efectividad y tolerabilidad terapéutica de un fitomedicamento elaborado con el extracto estandarizado (en la concentración de encecalina) de *A. pichinchensis* en pacientes con onicomycosis leve y moderada utilizando dos diferentes concentraciones de extracto (12.6 y 16.8%). Se realizó un estudio clínico, doble ciego, aleatorizado y controlado, que evaluó la efectividad y tolerabilidad terapéutica de los dos fitomedicamentos en una base de laca para ser administrados localmente durante seis meses. Se incluyó un control positivo que consistió en un medicamento con una presentación idéntica pero que contenía ciclopirox al 8%. Se incluyeron un total de 181 pacientes, de los cuáles, 62 (34.3%) fueron tratados con el fitomedicamento de *A. pichinchensis* con la concentración al 12.6%, 60 (33.1%) recibieron tratamiento con el fitomedicamento al 16.8%, mientras que 59 pacientes (32.5%) recibieron el medicamento que contenía ciclopirox al 8%.

Una vez concluido el tiempo de administración de los tratamientos, la efectividad fue de un 67.2% en los pacientes que se aplicaron el fitomedicamento a la concentración más baja (12.6%) y de 79.2% en los que se administraron la concentración más alta (16.8%) y de un 80% en los pacientes que se aplicaron el tratamiento control. Con relación a la evolución clínica, el análisis de resultados evidenció que la concentración al 16.8% presentó una mayor efectividad terapéutica con una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.010$). Ninguno de los tratamientos presentó efectos adversos. De acuerdo al análisis de resultados se puede concluir que ambas concentraciones del fitomedicamento son eficaces en el tratamiento de la onicomycosis leve y moderada y que el efecto fue similar al producido por el ciclopirox al 8%.

Además, en ningún caso se detectaron efectos adversos y fue posible establecer que la concentración más alta del extracto (16.8%) presenta una mayor efectividad conservando la tolerabilidad.

SUMMARY

Onychomycosis is a disease with a therapeutic challenge determined by the nail-substratum anatomical characteristics, and due to disease chronicity. In Mexico, dermatomycoses are among the 20 main causes for visiting a Physician. *Ageratina pichinchensis*, popularly known as “axihuitl”, has been used in Mexican Traditional Medicine for the treatment of superficial mycosis. With this purpose, fresh or dried aerial parts of this plant are extracted with alcohol, and the product is administered topically onto the damaged skin. From a low polarity extract, an antifungal compound was isolated and chemically identified as encecalin. The objective of the present work was to evaluate the therapeutic effectiveness and tolerability of two phytopharmaceutical products prepared with standardized extract (encecalin containing) of *A. pichinchensis* on patients with mild and moderate onychomycosis, and the comparison of both extract concentrations (12.6 and 16.8%). A double blind clinical trial was carried out for evaluating the effectiveness and tolerability of *A. pichinchensis* (12.6 and 16.8%) in lacquer solution for topical administration for six months. A positive control treatment was included using a similar presentation but, in this case, containing 8% ciclopirox. A total of 181 patients were included, 62 (34.3%) were treated with the phytopharmaceutical containing 12.6% extract, 60 (33.1%) received treatment with 16.8%, while 59 (32.5%) received the 8% ciclopirox.

At the end of the treatment period, the therapeutic effectiveness exhibited by the lower concentration (12.6%) of *A. pichinchensis* extract was 67.2%, patients treated with the higher concentration (16.8%) showed an effectiveness of 79.2%, while patients of the control group reached 80%. Regarding clinical evolution, analysis of results evidenced that the 16.8% extract possesses higher therapeutic effectiveness with a significant statistical difference ($p = 0.010$). Any treatment produced adverse effects. It is possible to conclude that both concentrations of phytopharmaceuticals possess effectiveness on patients with mild and moderate onychomycosis. The effect was similar to that produced by 8% ciclopirox. The formulation with the higher extract concentration (16.8%) possesses higher rates of effectiveness, but maintaining 100% tolerability.

I. INTRODUCCIÓN

La onicomycosis es una infección de las uñas causada por hongos, levaduras y mohos, pertenece al grupo de las dermatomycosis o micosis superficiales. Esta enfermedad afecta con mayor frecuencia las uñas de los pies y los patógenos que con mayor frecuencia se encuentran en las lesiones de las uñas son el *Trichophyton rubrum* y el *Trichophyton mentagrophytes*. La edad, la diabetes mellitus y las enfermedades que comprometen el funcionamiento del sistema inmune, son factores que predisponen a la persona a padecer la enfermedad. A nivel mundial la prevalencia de la onicomycosis oscila entre 2 y 10%. Esta enfermedad se puede presentar en diferentes formas clínicas: a) subungueal distal lateral, que es la más frecuente y se caracteriza por que suele iniciar en el borde lateral de la uña para posteriormente extenderse al lecho ungueal; b) la subungueal proximal, que es la forma clínica que suele presentarse en los pacientes inmunodeprimidos y las personas con diagnóstico positivo al virus de la inmunodeficiencia humana; c) la onicomycosis superficial, que afecta la superficie de la uña y no al lecho ungueal; y d) onicomycosis distrófica total, que se caracteriza por presentar el plato ungueal completamente destruido.

A pesar de la existencia de diferentes medicamentos antifúngicos, el manejo médico de la onicomycosis es considerado un reto terapéutico. La infección producida por hongos en las uñas tiende a ser crónica y debido a las características del tejido, el tratamiento debe ser administrado por tiempo prolongado. Por esta razón el tratamiento tiene un alto índice de abandono, además de que la reinfección es muy frecuente. Además de lo anterior, los medicamentos disponibles han mostrado producir efectos adversos e interacciones con otros medicamentos. Los medicamentos de mayor uso en este padecimiento son: terbinafina, itraconazol, fluconazol, ketokonazol, ciclopirox y amorolfina. Todos se administran por la vía oral y algunos, entre ellos el ciclopirox son para uso tópico. El ciclopirox como tratamiento tópico en onicomycosis leve y moderada ha mostrado efectividad hasta de un 80%.

En la medicina tradicional mexicana se utiliza la especie *A. pichinchensis* (Asteraceae) para tratar “granos en la piel”. Extractos obtenidos de esta planta han mostrado en estudios antimicrobianos, su capacidad para inhibir el crecimiento de dermatofitos. En un ensayo clínico previo, se demostró la efectividad y tolerabilidad terapéutica de un fitomedicamento

(formulado en crema para su administración local) que contenía el extracto de *A. pichinchensis* en pacientes con diagnóstico de *tinea pedis*. La crema se administró durante cuatro semanas y se encontró una efectividad del 80.3% sin producir efectos adversos. El mismo extracto se utilizó para la elaboración de un producto para la aplicación tópica en casos de onicomicosis, en este caso se desarrolló un fitomedicamento que contenía el extracto de *A. pichinchensis* al 10% en una solución de laca que administrado en pacientes con onicomicosis leve y moderada presentó una efectividad terapéutica del 59.1%. Con este medicamento tampoco se evidenciaron efectos adversos. Los dos padecimientos, la *tinea pedis* y la onicomicosis, se consideran dermatomicosis o micosis superficiales, siendo el *T. rubrum* el patógeno que con mayor frecuencia las produce. En el presente trabajo se prepararon dos presentaciones del fitomedicamento en laca, uno que contenía el extracto estandarizado de *A. pichinchensis* en un a concentración al 12.6% y otro al 16.8%. Ambos tratamientos se evaluaron en pacientes que padecían onicomicosis leve y moderada a través de la administración tópica durante 6 meses.

II. ANTECEDENTES

a. Aspectos generales de las micosis

El término micosis alude a la infección causada por hongos. La forma más común de la enfermedad micótica es la infección, que es el crecimiento de un hongo en un huésped humano o animal. El establecimiento de una micosis depende del estado inmunológico del huésped, de la vía de exposición, del tamaño del inóculo y de la virulencia del hongo (Brooks GF y col, 2002).

b. Dermatofitosis

Las infecciones de la piel en el hombre incluyen una gran variedad de enfermedades que afectan tegumentos y sus apéndices como son uñas y pelos. Por lo general, es un grupo de enfermedades causadas por especies de hongos queratinófilos llamados dermatófitos, son un grupo de hongos muy similares que se relacionan entre si y causan una variedad muy amplia de enfermedades. Las dermatofitosis son un grupo de enfermedades causadas por hongos del género anamórfico como son: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*, (la clasificación de los grupos se describe en la tabla 1) (Martínez A y Arenas R, 2003; Rippon JW, 1990). Son enfermedades que disminuyen la calidad de vida del paciente, al disminuir la capacidad de inserción social debido al aspecto de las lesiones. Además producen un impacto económico importante en los Sistemas de Salud a nivel mundial, por los costos que representa al ser tratamientos prolongados y de baja efectividad (Ghannoum MA y col, 2004).

Tabla 1. Clasificación de géneros y especies de dermatofitos

<i>Epidermophyton</i>	<i>Microsporum</i>	<i>Trichophyton</i>
<i>E. floccosum</i>	<i>M. amazonicum</i>	<i>T. ajelloi</i>
<i>E. stockdaleae</i>	<i>M. arthroderma cookiellum</i>	<i>T. concentricum</i>
	<i>M. audouinii</i>	<i>T. equinum</i>
	<i>M. boullardii</i>	<i>T. flavescens</i>
	<i>M. canis</i>	<i>T. georgiae</i>
	<i>M. cookie</i>	<i>T. gloriae</i>
	<i>M. equinum</i>	<i>T. gourvilii</i>
	<i>M. ferrugineum</i>	<i>T. longifusum</i>
	<i>M. fulvum</i>	<i>T. mariatii</i>
	<i>M. gallinae</i>	<i>T. megninii</i>
	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i> (*)
	<i>M. Nahum</i>	<i>T. phaseoliforme</i>
	<i>M. persicolor</i>	<i>T. rubrum</i> (*)
	<i>M. praecox</i>	<i>T. schoenleinii</i>
	<i>M. racemosum</i>	<i>T. simii</i>
	<i>M. ripariae</i>	<i>T. soudanense</i>
	<i>M. vanbreuseghemii</i>	<i>T. terrestre</i>
		<i>T. tonsurans</i>

*Especies patógenas que se identifican con mayor frecuencia como responsables de onicomycosis.

c. Las micosis: patogenicidad y patogenia

Los dermatofitos son el único tipo de hongos que establecen una forma de ciclo de vida parasitario; esto quiere decir que dependen de la infección en el hombre para poder vivir. Presentan un alto grado de especificidad por los tejidos que parásita como son la capa cornea de la epidermis, pelo y uñas. En sujetos normales los dermatofitos son incapaces de afectar otros órganos. La historia natural de la enfermedad evoluciona a través de la formación de colonias en la capa cornea de la piel o del tejido infectado y las condiciones del huésped determinarán el pronóstico de la enfermedad (Rippon JW, 1990).

d. Formas de proliferación de los hongos

La forma de proliferación del hongo se refiere a la producción de colonias filamentosas multicelulares. Son colonias que consisten en cúmulos cilíndricos ramificados cuyo diámetro varía de 2 a 10 μm y se denominan hifas. El crecimiento de las hifas se produce por elongación apical es decir, por extensión de la longitud desde el extremo del filamento o hifa. La masa de hifas entrelazadas que se acumulan durante la proliferación activa en la forma de moho se denomina micelio. Algunas hifas están divididas en células por tabiques, que típicamente se forman por intervalos regulares durante la proliferación filamentosas. Los hongos tienden a proliferar muy bien en la superficie de los sustratos naturales o los medios de laboratorio. En estas situaciones, las hifas que penetran en el medio de sostén y absorben los nutrientes se denominan hifas vegetativas o sustratos. Los mohos habitualmente se identifican por la observación de su morfología. El examen macroscópico de un moho debe incluir la observación de características como velocidad de proliferación, la topografía (lisa, verrugosa), la textura de la superficie (aterciopelada, algodonosa, pulverulenta) y la pigmentación (en el anverso, reverso o difusible hacia el medio). En el examen microscópico los tipos de esporas u otras estructuras reproductoras (pigmentos, tamaño, forma, modo de adherencia) y su ontogenia son característicos de cada especie (Joklik WK y col, 1998).

e. Formas de reproducción de los hongos

- 1) La reproducción asexual puede ocurrir, simplemente, como el crecimiento vegetativo o la expansión de una colonia de mohos o levaduras consecuente a la multiplicación celular. La reproducción asexual habitualmente se refiere a la producción de esporas propágulos, que en general son más resistentes a las condiciones ambientales adversas. Los conidios son los principales propágulos o esporas asexuales. Los conidios son producidos por estructuras especializadas, las células conidiógneas, y se clasifican de acuerdo a su proceso de desarrollo.
- 2) Reproducción parasexual es una secuencia de sucesos que culmina en el intercambio genético por medio de la recombinación mitótica, esta forma de reproducción

proporciona un mecanismo natural para el intercambio genético entre los hongos imperfectos (Joklik WK y col, 1998).

f. Onicomycosis o *tinea unguium*

1. Definición

Onicomycosis es el término para describir una infección de las uñas causada por hongos, levaduras o mohos; aunque los dermatofitos son los que aparecen con mayor frecuencia como causantes de la enfermedad. El término onicomycosis, conocido también como *tinea unguium* o tiña de las uñas, proviene de griego *onyx* que significa uña y *mykes* que se refiere a hongo. En el 80% de los casos las uñas que se ven afectadas son las de los pies (Gayoso CW y col, 2005; López JO y Torres RJ, 1999; Tasic S y col, 2001).

2. Signos y síntomas

La onicomycosis puede afectar una, varias o todas las uñas. Dentro de la sintomatología se incluyen cambios de color, textura y grosor de la uña: 1) oncolisis, que es la separación de la uña del lecho ungueal; 2) hiperqueratosis, que es el aumento del grosor de la uña; 3) opacidad de la uña; 4) inflamación del parénquima, debido a la inflamación de la piel plegada en la orilla de la uña; 5) cambios de coloración, que puede ser blanca, amarilla o café (Ballesté R y col, 2003).

La uña con onicomycosis se puede romper con facilidad, se engruesa y causa presión, dolor e irritación, principalmente cuando el zapato está gastado. Las personas pueden tener dificultad para usar zapato, incluso para caminar. Los hongos en las uñas también pueden impactar en la autoestima, ya que quien la padece suele evitar actividades recreativas que le exijan quitarse los zapatos y tampoco hacen uso de zapato descubierto debido a la apariencia de sus pies. (Katsambras A y col, 2005; Maysen P y col, 2009).

La onicomycosis es considerada como un factor de riesgo importante para desarrollar un cuadro agudo de celulitis bacteriana en piernas, pero que fácilmente cede a la terapia medicamentosa (Bristow IR y Spruce MC, 2009; Roujeau JC y col, 2004).

3. Anatomía de la uña

Una uña es una estructura córnea situada en el extremo de un dedo humano o de animal. Están compuestas de: a) Matriz o raíz de la uña, ésta es la parte donde crece la uña y esta situada bajo la piel en la parte donde se origina la uña, b) Eponiquio, estrecha franja del pliegue de la piel que parece terminar en la base del cuerpo ungueal, también llamada cutícula, c) Paroniquio, estrecha franja del pliegue de la piel a los lados de la uña, d) Hioniquio, tejido ubicado en el borde libre de la uña, que constituye un sello impermeable que protege al lecho ungueal de las infecciones, e) Cuerpo ungueal, es la estructura córnea que normalmente conocemos como uña, también es llamada placa, la porción dura y traslúcida compuesta por queratina, d) Lecho ungueal, es el tejido conectivo adherente que se encuentra debajo de la uña y conecta con el dedo, f) Lúnula, es la parte blanquecina en forma de medialuna que se observa casi siempre en la base del cuerpo ungueal. No todos los dedos la tienen visible. La lúnula es el final de la matriz y, por lo tanto, la parte visible de la uña viva. El resto del cuerpo ungueal se compone de células muertas. (wikipedia.org/wiki, 2008).

4. Histología de la uña

Las uñas están formadas por células endurecidas que contienen una proteína fibrosa, la queratina. Su ritmo de crecimiento varía de un dedo a otro y de una persona a otra. Como promedio, las uñas crecen unos tres milímetros por mes y, si no se cortan, pueden alcanzar una longitud considerable. Cuando una uña se encuentra infectada por un hongo hay aumento de queratinocitos en la lámina ungueal, así como también, engrosamiento de los vasos sanguíneos y degeneración del tejido elástico. La composición química de la uña también se modifica en los casos de infección. En los pies, las uñas se tornan duras e hipertróficas, generalmente por asociación con onicomycosis, onicogriposis y onicocriptosis (Cedeño L y col, 2005).

5. Epidemiología de la onicomicosis

Las infecciones que afectan a los pies son cada día mas frecuentes, además de que la edad de los pacientes es un factor que aumenta la incidencia, prevalencia y severidad. La onicomicosis se incluye dentro de estos padecimientos (Robbins JM, 2000). Las infecciones por dermatófitos se inician en la piel, generalmente después de un traumatismo y por la simple exposición al patógeno. Existe evidencia de que la susceptibilidad del huésped puede ser incrementada por diversos factores como la humedad, el calor, la química específica de la piel, la composición de la grasa, la transpiración, la edad, la exposición intensa y la predisposición genética. La incidencia es más alta en climas cálidos y húmedos, así como en condiciones de hacinamiento (Barber K y Barber J, 2009; Brooks GF, 2002; Detandt M y Nolard N, 1995). La onicomicosis es un padecimiento común de las uñas, y es tan alta su incidencia que es considerada la responsable del 50% de las enfermedades en esta parte del cuerpo (Faergemann J y Baran R, 2003). Se considera la infección más frecuente que se presenta en las uña; en Europa su prevalencia oscila entre el 3% y 10% (Roberts DT, 1999), mientras que en Estados Unidos de América es del 7 y 10% (Elewski BE y Charif MA, 1997; Heikkila H y Stubb S, 1995). Es un padecimiento que se encuentra dentro de los casos de mayor demanda de atención médica del primer nivel y es causa de un alto índice de ausentismo laboral, por lo que ha sido considerado un problema de salud pública (Drake LA y col, 1998).

Las dermatomicosis constituyen las micosis superficiales más frecuentes en México, dentro de las infecciones de la piel, tienen una frecuencia estimada del 5% (Arenas R, 2002). En la década de los noventa, un estudio reportó que la onicomicosis ocupaba el 24% de los casos de interconsulta con diagnóstico de micosis, el 67 % de los casos se presentó en adultos del sexo femenino, en el 92% de los casos las uñas afectadas fueron las de los pies; mientras que en los niños el padecimiento se presentó en el 4% y en ancianos en el 14%. El dermatofito que con mayor frecuencia se aisló fue *T. rubrum*, con un 74% de los casos (Arenas R, 2002).

En México, en un estudio desarrollado por Cedeño L y col, (2005) se recopilaron datos de pacientes geriátricos que acudieron durante un periodo de diez años al hospital general “Manuel Gea González” y que fueron derivados a la sección de micología con diagnóstico de

micosis; en dichas personas la prevalencia de onicomicosis fue del 47%, y el agente causal preponderante fue *T. rubrum* (60%).

6. Formas clínicas de la onicomicosis

Desde el punto de vista clínico se reconocen diferentes formas de onicomicosis que se clasifican de acuerdo a la forma de presentación de la lesión y la histopatología. Las presentaciones clínicas se dividen en cuatro:

- a) subungueal lateral y distal (OSLD). Es la forma más común de presentación, afecta al hiponiquio o el borde ungueal lateral, casi siempre inicia en el borde lateral de la uña y se extiende al lecho ungueal, lo que provoca una hiperqueratosis subungueal y oncolisis, aunque el plato ungueal no suele estar afectado inicialmente.
- b) subungueal proximal (OSP). Afecta el estrato córneo del eponiquio, es una variedad poco frecuente a menudo relacionada con padecimientos interrecurrentes. Los pacientes inmunodeprimidos especialmente los que padecen SIDA o positivos al virus de la inmunodeficiencia adquirida son quien presentan esta variedad.
- c) subungeal superficial (OS). Es menos frecuente que la distal subungueal, afecta la superficie del plato ungueal y no al lecho ungueal. Se observa una decoloración en la superficie de la uña y es muy escamosa. La especie que se ha identificado es *T. mentagrophytes*.
- d) onicomicosis distrófica total (ODT). Cualquier variedad de las onicomicosis puede evolucionar a una distrófica total, y es considerada cuando el plato ungueal se encuentra completamente destruido (Ballesté R y col, 2003; Baran A y col, 1998).

7. Factores predisponentes para desarrollar onicomicosis

La onicomicosis es considerada un padecimiento multifactorial, donde la edad es uno de los factores de importancia, además de los factores genéticos y patológicos como son: insuficiencia venosa, diabetes, pobre circulación periférica, entre otras (Faergemann J y Baran R, 2003). Las infecciones producidas por hongos se han incrementado de manera drástica en frecuencia y gravedad, esto probablemente es debido a los avances en la medicina, en la

cirugía, el tratamiento de cáncer, al aumento de uso de antimicrobianos de amplio espectro y al aumento de pacientes con trastornos del sistema inmunológico (Katzung B, 2005). Las infecciones oportunistas se encuentran comúnmente en pacientes que padecen SIDA, una de ellas es la onicomicosis, que además es una de las infecciones más frecuentes que presentan estos pacientes (Kwon KS y col, 2004).

Es posible ordenar los factores de riesgo para padecer onicomicosis según su frecuencia: el cáncer, la psoriasis, la *tinea pedis* interdigital, la *tinea pedis* en mocasín, la presencia de familiares con onicomicosis, el nadar regularmente y la edad de 50 años o más (Boonchai W y col, 2003). El aumento de la prevalencia de onicomicosis con la edad puede ser debido a las modificaciones de la composición de la uña y de las defensas inmunes intrínsecas, pero no al retraso en el crecimiento (Arrese JE y col, 2005). Además de lo anterior, los nuevos estilos vida, como el uso de calzado cerrado de materiales sintéticos, son otra causa que puede predisponer al desarrollo de onicomicosis (Evans EG, 1998). Otro factor que se ha considerado como riesgo, sobre todo en las mujeres, es el uso de uñas artificiales (Shemer A y col, 2008).

8. Agente causal de la onicomicosis.

Los dermatofitos son los agentes etiológicos de la onicomicosis en un 80 a 90% de los casos y predominan en las uñas de los pies. Dentro de este grupo se encuentran los hongos del género *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton* (Sigurgeirsson B y Steingrimsson O, 2004). En México, el agente causal que con mayor frecuencia se identifica en la onicomicosis es el *T. rubrum*, con una proporción del 87%, seguido de *T. mentagrophytes* con un 9% de los casos y *Candida albicans* en el 2 a 3% (Ballesté R y col, 2003). En la población infantil el *T. rubrum* aumenta su proporción como causante de onicomicosis alcanzando un 92% (Arenas R, 2002).

Los dermatofitos son hongos filamentosos, queratinofílicos y queratinolíticos, que se desarrollan en la queratina presente en la piel y los anexos, producen enzimas capaces de degradar la queratina para utilizarla como nutriente. Son sumamente contagiosos a través de mecanismos que involucran la formación de esporas, y pueden transmitirse entre personas, entre animales homeotermos y entre éstos y el hombre. Así mismo, el contagio puede ser

desde ambientes naturales al hombre o a los animales. Otra forma de contagio es la indirecta que es por medio de objetos contaminados.

Los dermatofitos presentan artroconideas, que al adherirse a la piel o a los anexos sufren cambios en la morfología de sus células y dan paso a las hifas, las cuáles a su vez son filamentos tipo moho ramificados que pueden o no ser artrosporos.

En los cultivos hay producción de macroconidios y microconideos, lo que hace posible hacer un diagnóstico diferencial entre los distintos géneros y especies (Adhikari L y col, 2009; Apodaca G y McKerrow JH, 1989; Apodaca G y McKerrow JH, 1989; Ballesté R y col, 2000; Chinelli PA y col, 2003; Del Palacio A y col, 1992; Meevootisom V y Niederpruem DJ, 1979; Mignon BR y Losson BJ, 1997; Mignon BR y col, 1998; Rashid A y col, 1995; Simpanya MF y Baxter M, 1996).

9. Diagnóstico clínico y micológico de la onicomicosis

Antes de dar inicio al tratamiento médico de onicomicosis es necesario hacer el diagnóstico clínico y micológico de la enfermedad. El diagnóstico clínico se realiza principalmente a través de la clínica donde la exploración física del paciente permitirá la identificación de los signos y síntomas compatibles con onicomicosis.

El diagnóstico micológico se apoya en un ensayo de laboratorio que consiste en hacer un examen directo a través de un microscopio óptico que permitirá visualizar elementos de hongos en una muestra de uña. Con la información clínica y el examen directo sería suficiente, sin embargo es posible realizar además la identificación del agente causal a través del cultivo de una muestra obtenida de la lesión. Un buen diagnóstico micológico dependerá de la calidad de la muestra, la experiencia y la habilidad de la persona que observa la muestra. Con relación a la identificación del agente causal se ha reportado que hay un rango menor al 30% de cultivos falsos negativos (Fletcher CL y col, 2004; Roberts WD y col, 2003).

Como la onicomicosis es una infección que inicia con mayor frecuencia en el lecho ungueal y no en la uña, la muestra debe ser de obtenida de la parte más cercana a la infección, además de tomar la mayor cantidad de uña que sea posible. La técnica para obtener la muestra dependerá del tipo de onicomicosis que padezca el paciente. En la OSLD, el material puede ser obtenido de abajo de la uña; en la OSP, aunque es rara, la muestra puede obtener a través

de un raspado con una hoja de bisturí (si es necesario, se podrá practicar una biopsia para obtener la muestra del lecho ungueal); en la OS, como la infección se encuentra en la superficie de la uña, puede hacerse un raspado y realizar el examen directamente.

Una vez obtenida la muestra, el material obtenido se degrada con hidróxido de potasio (KOH) al 20%, con el fin de poder ser observada en el microscopio y de esta forma identificar con mayor facilidad las hifas. El resto de la muestra se podrá utilizar para realizar un cultivo (si es necesario) en medio de Sabouraud (al que se le añade un antibiótico). El cultivo se incuba a una temperatura de 28°C durante tres semanas y entonces se realiza observación e identificación al microscopio (Roberts WD y col, 2003; Mochizuki T y col, 2005). Estas técnicas son hasta ahora las más frecuentemente usadas para el diagnóstico de este padecimiento (Bonifaz A e Ibarra G, 2000) sin embargo, se continúa con investigaciones orientadas a mejorar la técnica de obtención de la muestra (Shemer A y col, 2009). Es importante mencionar que la microscopia confocal, *in vivo*, se ha propuesto como una técnica moderna con menor posibilidad de error que podría ser utilizada rutinariamente en un futuro próximo para el diagnóstico de la onicomycosis (Tasic S y col, 2001).

10. Diagnóstico diferencial de la onicomycosis

Para realizar el diagnóstico diferencial se deberán tomar en cuenta varias enfermedades que podrían enmascarar una infección por hongos: acrodermatitis galopea, liquen plano, melanoma del lecho de la uña, oncolisis paroniquia, síndrome de Reiter, psoriasis del lecho ungueal y síndrome de la uña amarilla. Para realizar el diagnóstico diferencial es recomendable hacer una biopsia de la uña (Barrera-Vigo MV y col, 2008). En el síndrome de la uña amarilla, se deberán raspar las manchas blancas que se encuentran encima de la uña y, cuando sea necesario, raspar la parte exterior de la uña (Fletcher CL y col, 2004),

11. Tratamientos disponibles para el manejo de la onicomycosis

La onicomycosis es un padecimiento que tiende a la cronicidad, lo que contribuye de manera importante en convertirlo en un padecimiento de difícil tratamiento (Gupta AK y col, 2004). Los medicamentos que se utilizan para el tratamiento de la onicomycosis son

generalmente administrados por la vía oral y por largos periodos sin embargo, a pesar de esto, en muchas ocasiones se encuentra una pobre respuesta al tratamiento al ser frecuentemente abandonado por los pacientes.

El manejo de la onicomicosis incluye además manejos que podrían identificarse como paliativos, como por ejemplo, la debridación con químicos o en forma mecánica. En el mercado se encuentran disponibles varios antifúngicos que pudieran ser indicados en el tratamiento de la onicomicosis, sin embargo todos ellos son para administración por la vía oral. Hasta la fecha, solo se cuenta con pocos medicamento para administración tópica, entre ellos el ciclopirox, que se utilizará en este estudio como medicamento control. La onicomicosis es, sin duda, un reto terapéutico determinado por las características anatómicas del sustrato ungueal y por la cronicidad del padecimiento (Gupta AK, 2000; Gupta AK y col, 2004). Según el área o masa ungueal afectada, el tratamiento puede tener un resultado variable, puesto que la respuesta terapéutica va a ser diferente.

En el diseño de un tratamiento para la onicomicosis debe considerarse:

- a) Las diferentes formas de afectación de la lámina ungueal.
- b) Las diferentes modalidades de tratamiento.
- c) La valoración de la eficacia terapéutica tanto clínica como micológica.

A pesar de que se cuenta con varios medicamentos antifúngicos y la posibilidad de optar por un tratamiento local, oral o combinado, existe una tasa de fracasos terapéuticos del 25%.

Las razones del fracaso terapéutico se atribuyen a:

- 1) El bajo apego al tratamiento que tiene el paciente (52%) debido a la cronicidad del padecimiento.
- 2) Farmacocinética inadecuada de los fármacos empleados para alcanzar la masa ungueal afectada. Los fármacos orales alcanzan con dificultad los bordes laterales y la mayor parte de la lámina ungueal, especialmente en casos de onicolisis, mientras que el tratamiento tópico difícilmente se difunde hasta las capas más profundas de la lámina. En el tratamiento tópico hay que establecer la capacidad de difusión en la lámina ungueal, para lo cual es básico utilizar un vehículo adecuado, por ejemplo, los introducidos recientemente en forma de laca.

Con algunos de los antifúngicos orales se ha demostrado la penetración y depósito en lámina ungueal, por ejemplo: itraconazol, fluoconazol y terbinafina.

3) Existe la posibilidad de que haya una resistencia al fármaco que se ha utilizado previamente como tratamiento para la onicomicosis, aunque se encuentran muy pocos estudios relacionados con este aspecto, sobre todo de los dermatofitos u hongos filamentosos (Elewski BE, 1998).

12. Ventajas y desventajas de los antifúngicos de uso tópico

Dentro de las ventajas del tratamiento tópico de la onicomicosis se encuentra la facilidad de su administración, pero, sobre todo, una muy reducida posibilidad de identificar efectos adversos producidos por el medicamento, además de la ausencia de interacción con el uso de otros medicamentos orales o parenterales; que evitará la necesidad de técnicas de monitoreo del paciente a través de pruebas analíticas de laboratorio y, finalmente, una adecuada relación costo-efectividad en determinadas situaciones clínicas.

Dentro de las desventajas del uso de medicamentos tópicos se encuentra la necesidad de hacer una debridación de la uña. Por otro lado una pobre eficacia del medicamento. También se debe considerar que como consecuencia de la duración del tratamiento se requiere de una gran motivación del paciente (Llambrich A y Lecha M, 2002).

13. Tratamiento sistémico

Para el tratamiento de la onicomicosis se deberá elegir considerando algunos factores como: la edad, el estado de salud del paciente, la forma clínica, la extensión de la lesión y el agente etiológico. El tratamiento tópico como única terapia está indicado en los casos de onicomicosis en donde la afectación de la uña sea menor al 50% y donde la matriz ungueal no esté incluida. La terapia oral sola, o combinada con tratamiento tópico, se indica cuando se encuentra afectada más del 50% de la uña, y/o se incluye a la matriz ungueal. El tratamiento tópico en la onicomicosis no está indicado cuando el transporte de la droga tópica no es óptimo, por ejemplo, en dermatofitomas, onicolisis y en distrofias de la uña (Lecha M y col, 2005).

Los antifúngicos clásicamente usados para el tratamiento de la onicomicosis son la griseofulvina y el ketokonazol, aunque han sido sustituidos por nuevos compuestos químicos que han presentado mayor seguridad y mejores resultados en cuanto acortamiento del tiempo de tratamiento (Maestre JR y Cervera A, 2005).

La **griseofulvina** es un fungistático que actúa inhibiendo la síntesis de ácido desoxirribonucleico (DNA), impidiendo la división celular e inhibiendo la síntesis celular del hongo. Su presentación es en tabletas y es el único antifúngico autorizado para ser administrado en niños con onicomicosis. La dosis recomendada en niños es de 10 mg/kg todos los días durante un mes y en adultos es de 500 mg diarios durante un tiempo que va de 12 a 18 meses. La efectividad terapéutica que suele observarse en onicomicosis de los pies es de un 30 a 40% (Roberts DT y col, 2003).

El **ketokonazol** es un imidazol que durante muchos años se ha utilizado por la vía oral para el tratamiento de las micosis superficiales y profundas. Se recomienda una dosis de 200 a 400 mg distribuidos durante el día, por un periodo de 8 a 18 meses. Algunos medicamentos como la rifampicina, fenilhidantoína e isoniazida aceleran su metabolismo.

Los efectos adversos que se pueden presentar al recibir tratamiento con ketokonazol son: irregularidades menstruales, ginecomastia, disminución de la libido, disminución de la erección, disminución de los niveles de testosterona y estradiol, retención hídrica e hipertensión arterial. No es frecuente que produzca hepatitis, pero cuando se presenta es letal (Goodman & Gilman, 2003; Lewis JH y col, 1984; Roberts DT y col, 2003).

En la actualidad, se utilizan también para la administración oral la terbinafina, itraconazol, fluconazol, amorolfina, ravuconazol, ciclopirox y bifonazol; aunque ninguno de ellos ha demostrado una eficacia segura en todos los casos de onicomicosis (Barba R y col, 2005; Gupta AK y col, 2004).

La **terbinafina** es un antimicótico que pertenece al grupo de las alilaminas, su mecanismo de acción es la inhibición de ergosterol. Es efectivo contra dermatofitos a dosis de 250 mg/día. Sus efectos adversos son gastrointestinales y cutáneos, ocasionalmente alteraciones hepáticas, se recomienda que cuando un paciente con onicomicosis es tratado con terbinafina, se vigile estrechamente con evaluaciones periódicas de laboratorio por posible disfunción hepática. Es el antimicótico *in vitro* más potente en la actualidad y concuerda con

los resultados obtenidos en estudios clínicos (Goodman & Gilman, 2003; Katzung B, 2005; Ryder NS y Leitner I, 1998; Sánchez JL y col, 1999).

El **itraconazol** es un derivado azólico activo contra todos los dermatofitos y levaduras. Mantiene concentraciones elevadas en las uñas durante seis a nueve meses después de haber terminado la administración, aunque no tiene tanta actividad *in vitro* como la terbinafina. Su mecanismo de acción es mediante la inhibición del ergosterol de la pared de los hongos. Los efectos adversos de mayor importancia que desencadena el itraconazol son las interacciones medicamentosas, ya que puede provocar intoxicaciones graves por el fármaco con el que interactúa, por ejemplo: arritmias cardíacas letales con astemizol, quinidina y cisaprida (Goodman & Gilman, 2003; Roberts y col, 2003).

El **fluconazol** es otro derivado azólico, tiene características similares al itraconazol, aunque se une menos a la queratina que el itraconazol. Su vida media en plasma es de 30 horas, se administra en forma de pauta pulsátil a dosis de 150-300 mg una vez a la semana durante seis meses. Un 16% de los pacientes sufren efectos adversos, además de que interacciona con warfaina, sulfonilureas y benzodiazepinas (Ballesté R y col, 2003).

En la actualidad, además de los tratamientos orales y tópicos se utilizan otras terapias por ejemplo: la aplicación de bajo voltaje que proporcione electroestimulación a las uñas infectadas por hongos. Los autores consideran que la electroestimulación tiene un gran potencial como tratamiento para la onicomycosis y quizá para otras infecciones superficiales cuyo agente etiológico sea un hongo (Kalinowski DP y col, 2004).

g. Antecedentes del tratamiento control (ciclopirox).

El ciclopirox posee una actividad antimicótica de amplio espectro (Goodman & Gilman, 2003), además de tener propiedades antibacterianas y antiinflamatorias. Su modo de acción probablemente sea una alta afinidad con cationes trivalentes que inhiben esencialmente co-factores en reacciones enzimáticas. Los efectos adversos que presenta el ciclopirox son: prurito, sensación de quemadura de la piel y dermatitis de contacto (Gupta AK y Bluhm R, 2004). El ciclopirox, en una presentación en laca, es el primer antifúngico tópico autorizado por la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos de América como tratamiento para la onicomycosis leve y moderada (Gupta AK y Joseph WS, 2004). Se han realizado

diversos ensayos clínicos en los que se ha encontrado que el éxito terapéutico del ciclopirox al 8% al ser aplicado en pacientes con onicomicosis leve y moderada durante 48 semanas es mucho mayor que el que se presenta al ser aplicado un placebo (Gupta AK y col, 2000); además de presentar menos resistencia que otros antimicóticos con presentación farmacéutica en laca (Sidou F y Soto P, 2004).

h. Antecedentes del tratamiento experimental

En el estado de Morelos se utiliza una planta llamada popularmente “axihuitl”, también conocida con el nombre de “hierba del agua” y “hoja de agua”, su nombre científico es *Ageratina pichinchensis* (Kunth) R.M. King & Ho. Rob. (Asteraceae). Se describen como sinónimos a *Ageratina aschenborniana* y *Eupatorium aschenborniana* Schauer. Es un arbusto de hasta 1.5 metros de altura; tallo erguido, muy ramificado, cilíndrico, café amarillento, a veces algo rojizo, glabro o ligeramente pubescente (**Figura 1**). Esta especie vegetal es utilizada en la medicina tradicional mexicana como antifúngica. Con este fin, las partes aéreas de la planta, ya sea secas o frescas, se maceran en medio litro de alcohol por uno o dos días. Con esta solución se suele impregnar un algodón que se aplica sobre la piel limpia y seca, sobre llagas o en granos. No se ha reportado que produzca irritación en la zona de aplicación (Argueta A y col, 1994; Aviles M y Suárez G, 1994; Monroy OC y Castillo EP, 2000). Algunos grupos de investigación especializados en etnobotánica, química y biología se han dado a la tarea de identificarla y estudiarla. Actualmente se encuentra un ejemplar bajo resguardo en el Herbario del Instituto Nacional de Antropología e Historia, Morelos (INHAM), en la Ciudad de Cuernavaca, la clasificación taxonómica de la especie se muestra en la **tabla 2**.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Ageratina pichinchensis* (Heike Vibrans URL, 2007)

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Traqueobionta</i>
Superdivisión	<i>Spermatophyta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Asteridae</i>
Orden	<i>Asterales</i>
Familia	<i>Asteraceae</i> (Compositae)
Género	<i>Ageratina</i>
Especie	<i>Ageratina pichinchensis</i> (Kunth) R.M. King & Ho. Rob.



Figura 1. Fotografía de la especie *A. pichinchensis*, en la etapa de floración, capturada en su hábitat natural.

En 1982 se reportó el primer estudio científico de esta planta, en el cual se publicó una evaluación química y biológica de varias especies del género *Ageratina*, entre las que figuró *A. pichinchensis*; se logró el aislamiento de dos compuestos químicos que fueron identificados como dimetoxi-agerachromeno y agerotocromeno, que corresponden al grupo químico de las cromonas. El mismo trabajo mostró que estos compuestos poseen actividad sobre las hormonas de la reproducción en los insectos (Gómez F y col, 1982). En 2003 se reportó un rastreo de 9 plantas que se utilizan en la medicina tradicional en México. El trabajo tuvo como objetivo la búsqueda de actividad antifúngica, para lo cual, se prepararon extractos etanólicos de las partes aéreas. Se evaluó su capacidad de inhibición de crecimiento de cepas de *Candida albicans*, *Aspergillium niger*, *Trychophyton mentagrophytes* y *Trychophyton rubrum*, encontrándose que el extracto proveniente de la planta *Ageratina pichinchensis* fue el de mayor actividad contra los dermatofitos, alcanzó una concentración mínima inhibitoria (CMI), para *T. mentagrophytes* de 0.03 mg/ml y para *T. rubrum* de 0.2 mg/ml (Navarro VM y col, 2003). En ese mismo año se reportó otro estudio en donde se encontraron dos nuevas benzofuronas en las partes aéreas de *A. pichinchensis*, que además presentaron actividad antimicrobiana (Rios MY y col, 2003).

1. Biotecnología

Con la finalidad de obtener material vegetal más homogéneo y en cantidad suficiente para continuar con los estudios clínicos subsecuentes, en el Centro de Investigación Biomédica del Sur se ha llevado a cabo el establecimiento de un cultivo controlado a partir de semillas de la planta de *A. pichinchensis* colectada en su hábitat natural. Estudios farmacológicos y fitoquímicos realizados con la planta silvestre y la cultivada, mostraron equivalencia tanto en la actividad biológica como en el contenido químico de ambas fuentes de material vegetal. Actualmente se realiza en las instalaciones del mismo Centro, la técnica de micropropagación a través del cultivo de tejidos vegetales (CTV), que se encuentra basado en los principios de totipotencialidad celular (**figura 2 y 3**). Con esta metodología es posible regenerar un organismo a partir de una sola célula (Allan E y col, 1991). Estas técnicas son útiles para la producción de material vegetal orientado a la generación de materia prima vegetal con el fin de: desarrollar productos farmacéuticos y productos naturales, el

mejoramiento genético, la recuperación de germoplasma valioso y la multiplicación masiva y rápida de variedades selectas (Murashige T, 1974).

Para el establecimiento de la metodología de micropropagación de esta especie se adaptaron otras técnicas utilizadas previamente en otras especies (Villareal ML y Muñoz J, 1991; Villareal ML y Rojas G, 1996).

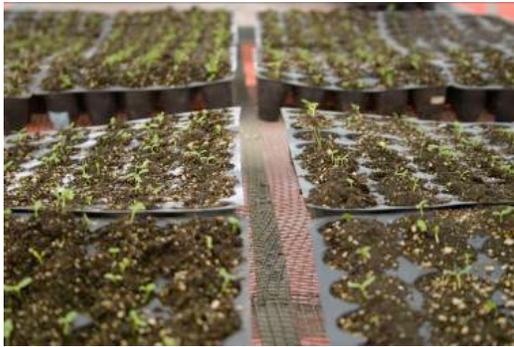


Fig. 2 Producción del material vegetal



Fig. 3 Cultivo controlado de *A. pichinchensis*

2. Estudios clínicos

Debido a la importancia que tiene la especie *A. pichinchensis* en la medicina tradicional mexicana y a los resultados reportados en la investigación básica llevada a cabo en esta planta, iniciamos hace unos años la investigación clínica con preparados farmacéuticos desarrollados a partir de extractos obtenidos de esta especie. Un primer ensayo clínico evaluó la efectividad y tolerabilidad terapéutica de un fitomedicamento elaborado con el extracto de *A. pichinchensis*, en una presentación en crema, en pacientes que padecían de *tinea pedis*. Después de cuatro semanas de tratamiento, el fitomedicamento logró una efectividad terapéutica del 80.3% sin mostrar efectos adversos (Romero C y col, 2006). Más recientemente, se desarrolló un fitomedicamento con el extracto de *A. pichinchensis*, pero en una formulación basada en una laca cosmética que pudiera ser administrada en forma tópica en pacientes que padecen de onicomicosis leve y moderada. Con una concentración al 10% el medicamento se administró en forma local en los pacientes durante 6 meses, al final de los

cuáles se obtuvo una efectividad terapéutica del 59.1%, con una excelente tolerabilidad ya que ningún paciente presentó efectos adversos a pesar del periodo de administración del medicamento (Romero C, y col, 2008).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La onicomicosis es el padecimiento que afecta las uñas con mayor frecuencia y se encuentra dentro de las principales causas por las que los pacientes solicitan atención médica. La prevalencia de este padecimiento se ha incrementado en los últimos años debido principalmente, al aumento de adultos mayores en la población, el aumento de la incidencia de enfermedades degenerativas como la diabetes mellitus, enfermedades como el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida, debido también a los nuevos estilos de vida, en donde el uso de calzado cerrado y hechos de material sintético es frecuente, así como por el uso de uñas artificiales.

Es común encontrar una deficiente atención al cuidado e higiene de las uñas, lamentablemente a esto contribuye también el personal de salud que, al no dar importancia a la revisión clínica de estos anexos, propicia que el diagnóstico se logre sólo en etapas muy avanzadas del padecimiento, lo que hace más difícil el tratamiento.

La onicomicosis es un padecimiento que tiende a la cronicidad, por lo que su tratamiento es prolongado. Para el tratamiento de la onicomicosis se cuenta con medicamentos orales que presentan efectos adversos importantes e interacción con otros medicamentos, factores que favorecen que el paciente interrumpa o abandone definitivamente el tratamiento. Esta situación permite la evolución del padecimiento a etapas más severas y la contaminación de uñas sanas.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

a. Pregunta general de investigación

¿Cuál será la efectividad y tolerabilidad terapéutica al administrar un fitomedicamento por vía tópica que contiene extracto estandarizado a diferentes concentraciones de *A. pichinchensis* como tratamiento de onicomicosis leve y moderada?

b. Preguntas específicas de investigación

a) ¿Cuál será la efectividad clínica de un extracto estandarizado de *A. pichinchensis* por vía tópica en pacientes con onicomicosis leve y moderada a una concentración de 12.6%?

b) ¿Cuál será la efectividad clínica de un extracto estandarizado de *A. pichinchensis* por vía tópica en pacientes con onicomicosis leve y moderada a una concentración de 16.8%?

c) ¿Cuál será la tolerabilidad clínica de un extracto estandarizado de *A. pichinchensis* por vía tópica en pacientes con onicomicosis leve y moderada a una concentración de 12.6%?

d) ¿Cuál será la tolerabilidad clínica de un extracto estandarizado de *A. pichinchensis* por vía tópica en pacientes con onicomicosis leve y moderada a una concentración de 16.8%?

V. JUSTIFICACIÓN

Hace pocos años se introdujo al mercado un medicamento de uso tópico con presentación en laca que ha mostrado efectividad terapéutica. El fármaco, que contiene ciclopirox al 8%, tiene como limitante un alto costo que lo hace poco accesible a una gran proporción de la población, o condiciona en algunos casos la interrupción o el abandono del tratamiento.

Tomando en cuenta el aumento de la prevalencia de la onicomycosis en la población y los efectos adversos que presentan los medicamentos administrados en forma oral, es necesario el desarrollo de nuevos recursos terapéuticos para el manejo de este padecimiento, especialmente los basados en productos para la administración tópica y que tengan un menor riesgo de producir efectos adversos y de interactuar con otros medicamentos. Recientemente se desarrolló un fitomedicamento antimicótico elaborado con el extracto de *A. pichinchensis* para la administración tópica en pacientes con infección de las uñas causadas por hongos, sin embargo, es importante definir la concentración necesaria del extracto para lograr una mayor efectividad terapéutica sin producir efectos adversos.

VI. HIPÓTESIS

Tomando en cuenta el uso médico tradicional y los resultados previos de investigación, que muestran el efecto antimicótico del extracto estandarizado de *A. pichinchensis*; la administración tópica de un fitomedicamento elaborado en forma de laca con un extracto estandarizado de la misma planta en onicomicosis leve y moderada mostrará efectividad terapéutica y tolerabilidad, además de permitir identificar la concentración más adecuada.

VII. OBJETIVOS

a. Objetivo general

Diseñar un fitomedicamento antifúngico para administración tópica, elaborado con extracto estandarizado de *A. pichinchensis* con el objetivo de evaluar la efectividad y tolerabilidad terapéutica en pacientes con onicomicosis leve y moderada.

b. Objetivos específicos

1. Obtener el extracto estandarizado de *A. pichinchensis* mediante un proceso químico que disminuya el contenido de sustancias inactivas que colorean el producto.
2. Formular un fitomedicamento con una presentación farmacéutica de barniz de uñas para la administración tópica a dos diferentes concentraciones de extracto estandarizado.
3. Preparación de un medicamento control bajo una presentación farmacéutica que permita el cegamiento de maniobra de asignación tratamientos a los pacientes.
4. Evaluar y comparar la efectividad, tolerabilidad y concentración terapéutica del fitofármaco en pacientes con onicomicosis leve y moderada.

VIII. MATERIAL, SUJETOS Y MÉTODOS

a. Obtención del material vegetal y preparación del extracto

El material vegetal se obtuvo de un cultivo controlado ubicado en el estado de Morelos. La planta fue identificada en el herbario del Instituto Nacional de Antropología e Historia en Morelos (INAHM), donde se depositó un ejemplar como referencia.

Del material colectado se seleccionaron las partes aéreas, las cuáles fueron secadas a la sombra y a temperatura ambiente. El material seco fue molido en un equipo eléctrico (Pulvex) hasta obtener partículas de un tamaño menor a 5 mm. Para la preparación del extracto, el material seco y molido fue macerado en hexano y acetato de etilo en igual proporción durante tres días y en tres ocasiones. El extracto obtenido fue filtrado y concentrado a presión reducida en un rotaevaporador semiindustrial (Heidolph de 20 lts) y finalmente secado al vacío después de esto el producto fue almacenado en refrigeración hasta su posterior utilización en el procedimiento de decoloración.

b. Decoloración del extracto

El extracto seco de *A. pichinchensis* se decoloró mediante cromatografía en columna, usando una fase sólida de carbón activado y se eluyó mediante una fase móvil de hexano:acetato de etilo en un gradiente de concentración que va de 100 a 30 % con respecto al hexano. Esta operación se llevó a cabo hasta que la elusión de la columna no evidenció arrastre de enecalina. El monitoreo de la columna cromatográfica, se verificó a través de cromatografía en capa fina bajo las siguientes condiciones: se utilizaron cromatoplasmas de sílica gel 60 de fase normal con el fin de analizar las fracciones concentradas de la columna usando como control de referencia la enecalina. Se utilizó un sistema de elusión hexano:acetato de etilo (80:20) y la placa se reveló con sulfato sérico amoniacal. La enecalina reveló con un color naranja con un $R_f = 0.6$, correspondiente a la enecalina. El extracto decolorado resultante fue almacenado a temperatura ambiente.

El producto resultante, al que se denominó extracto decolorado, fue sometido a una evaluación de su actividad antimicótica usando *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*, además de ser sometido al análisis cuantitativo a través de la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) con el fin de conocer y controlar la concentración del compuesto químico marcador.

c. Estandarización del extracto de *A. pichinchensis*

El compuesto utilizado como estándar, enecalina. Se obtuvo a través de un fraccionamiento biodirigido y un procedimiento de bioautografía. La identidad del compuesto fue corroborada a través de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN¹H). La molécula de enecalina pertenece al grupo de las benzofuronas; es un compuesto activo ya reportado anteriormente y se encuentra en la especie *A. pichinchensis*. El modelo monitor empleado para probar la actividad del compuesto fue la inhibición del crecimiento *in vitro* de los dermatófitos *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*. Para el fraccionamiento químico del compuesto se utilizaron disolventes orgánicos y cromatografía gravitacional en gel de sílice. La purificación del compuesto activo se logró mediante CLAR.

d. Formulación de un fitomedicamento para la administración tópica

Una vez decolorado el extracto de *A. pichinchensis* y corroborada su actividad antimicótica, fue utilizado en la formulación del fitomedicamento. Fue necesario disolver previamente el extracto vegetal decolorado y seco en acetato de etilo. El producto en solución fue incorporado en una laca ultratransparente (Perlamex 59, México) de alta calidad y mezclado hasta obtener, en un caso, una solución en laca con una concentración del extracto de *A. pichinchensis* de 12.6% y en el otro una concentración de 16.8%. El volumen de acetato de etilo se manejó con un intervalo de 5 a 15 % del volumen total. Posteriormente, la laca con el extracto decolorado, se mezcló con un agitador de propela de acero inoxidable a una velocidad de 100 rpm, evitando la formación de burbujas de aire. La laca utilizada presenta las siguientes características: contiene 31 % de sólidos en solución y una viscosidad de 1100 cp a

25° C. El producto obtenido fue sometido a diferentes pruebas de control de calidad como: estabilidad física, humedad y adhesividad.

Para el envasado del medicamento se adquirieron frascos de cristal con tapa y brocha exactamente igual a los que tiene el medicamento control en su presentación comercial.

Ambos tratamientos, el experimental y el control fueron etiquetados con la leyenda que identifica al proyecto y número de tratamiento. Los frascos fueron empacados en pequeñas cajas individuales de cartón identificadas también con los datos del proyecto y un número consecutivo que se utilizó para la asignación del tratamiento de una manera cegada (**Fig. 5 y 6**).

e. Preparación del medicamento control

Como tratamiento control se utilizó un medicamento comercial importado de Alemania y que contiene ciclopirox al 8%. Este producto sólo pudo ser adquirido en su forma comercial en farmacias. Para cegar el estudio al medicamento control se etiquetó y empacó de la misma manera que los tratamientos experimentales.

f. Evaluación de la efectividad y tolerabilidad terapéutica del fitomedicamento que contine *A. pichinchensis* a diferentes concentracones

Se realizó un estudio, prospectivo, doble ciego, aleatorizado y controlado en pacientes con diagnóstico de onicomicosis leve y moderada.

En el Centro de Investigación Biomédica del Sur se llevó a cabo el desarrollo del fitomedicamento y, una vez iniciado el estudio clínico, se realizaron también los exámenes directos de las muestras obtenidas de los pacientes y el cultivo e identificación de los agentes patógenos.

El ensayo clínico se desarrolló en el área de consulta externa de la Unidad de Medicina Familiar del Hospital General Regional No.1 (HGR No.1 c/MF) del IMSS en Cuernavaca, Morelos, en el que se cuenta con un área de atención a pacientes ambulatorios donde se realiza investigación clínica.

1. Grupos de estudio

Para el desarrollo del estudio se organizaron tres grupos de tratamiento. Dos de ellos para recibir el tratamiento experimental, cada uno con una dosis diferente, y el tercer grupo para recibir el tratamiento control.

1.1. Grupos experimentales

Estuvieron formados con pacientes que cursaban con diagnóstico clínico y micológico de onicomiosis leve y moderada. Fueron dos grupos experimentales a los que se les asignó el tratamiento que consistió en un frasco de 3 mL que contenía como vehículo laca y el extracto hexano:acetato de etilo estandarizado de *A. pichinchensis* a concentraciones del 12.6 y 16.8% para ser administrados por vía tópica durante 6 meses.

1.2. Grupo control

Este grupo también se conformó con pacientes que cursaban con diagnóstico clínico y micológico de onicomiosis leve y moderada, sin embargo, a estos pacientes se les asignó el tratamiento que consistió en un frasco de 3 mL que contenía ciclopirox laca al 8%.

2. Criterios de selección

Los pacientes elegidos como posibles candidatos para participar en el estudio, fueron seleccionados de la consulta externa en la Unidad de Medicina Familiar del HGR No.1 c/MF del IMSS en Cuernavaca, Morelos. Para que un paciente pudiera ser elegido como posible candidato a participar en el estudio se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

2.1. Criterios de inclusión

La edad de los pacientes debió fluctuar entre los 18 a 65 años, podían ingresar al estudio personas del género masculino o femenino con diagnóstico clínico y micológico (por

examen directo) de onicomicosis leve o moderada. Para que un paciente pudiera ser incluido en el estudio, fue necesario que antes de iniciar el tratamiento el participante firmara un consentimiento informado de participación en la investigación.

2.2. Criterios de no-inclusión

En el estudio no fue posible que participaran personas que presentaran alguna de las siguientes características: pacientes con *tinea pedis* que hubieran sido tratados con medicamento antimicótico por lo menos cuatro semanas antes del estudio; examen de microscopia directa negativa; alérgicos a medicamentos aplicados en forma tópica; pacientes en los que se fueran identificados hábitos higiénicos deficientes; con el antecedente de estar inmunodeprimidos y/o padecer diabetes; si el participante era mujer, no debería estar embarazada, lactando o sin método de control de fertilidad; pacientes en los que se detectó el antecedente de fármaco dependencia, alcoholismo o con alteraciones mentales, que no pudieran seguir en forma adecuada el tratamiento.

2.3. Criterios de eliminación

Una vez incluido el paciente, algunos aspectos fueron considerados por lo que los pacientes pudieran tener que abandonar el estudio clínico: cuándo el paciente hubiera presentado efectos adversos severos debidos a la aplicación del medicamento; cuando se hubiera detectado que el paciente no tenía un adecuado apego al tratamiento; cuando el paciente hubiera presentado alguna enfermedad grave durante su participación en el estudio; cuando el paciente hubiera optado por dejar el tratamiento y no continuar en el estudio.

3. Descripción general del estudio

Los pacientes fueron derivados por los médicos familiares adscritos a los turnos matutino y vespertino de la Unidad de atención médica donde se realizó el estudio. Como promoción al estudio también se utilizaron carteles y folletos que fueron distribuidos en lugares estratégicos del hospital.

Una vez que el paciente se presentaba en el consultorio de investigación, un médico capacitado para la realización del estudio les practicaba una historia clínica y una exploración física con la finalidad de corroborar el diagnóstico de onicomicosis leve (cuando los cambios de coloración, grosor y textura en la uña no afectaban más del 25% de la uña) o moderada (cuando los cambios en la uña afectaban entre el 26 y 50% de la uña). Cuando el paciente presentaba el cuadro clínico de onicomicosis leve o moderada y cumplía con los antecedentes necesarios para poder participar en el estudio se le proporcionaba la información necesaria y, si estaba de acuerdo en participar, debía firmar una carta de consentimiento informado. Finalmente, para ser incluido en el estudio, a cada uno de los pacientes se les tomó una muestra de la(s) uña(s) afectada(s) con el fin de realizar el examen directo, condición necesaria para ingresar al estudio.

Es importante mencionar que la carta de consentimiento informado contenía información sobre las características del estudio, beneficios a la población al concluir el estudio, compromiso que adquiere el enfermo al participar, compromisos que adquiere el investigador cuando el paciente es incluido en el estudio y derechos que adquiere el participante al ser incluido en el estudio.

Una vez corroborado el diagnóstico por el examen directo, el paciente fue asignado en forma aleatoria a un grupo de tratamiento y se le entregaba uno de los tratamientos que pudiera ser experimental o control. La primera aplicación de la laca se administró directamente en el consultorio, de esta forma se capacitó al propio participante con la manera adecuada de aplicación del medicamento.

Los pacientes incluidos fueron citados a consulta de control en forma mensual durante los seis meses que duró el tratamiento. En cada consulta de control se evaluó la evolución del cuadro clínico, la tolerabilidad y la adherencia al tratamiento. Cada mes se le entregó a cada paciente una tarjeta de control en donde anotar los días en que se aplicó el medicamento y la presencia o no de efectos adversos.

A la mitad (tres meses) y al final del tratamiento se tomó una muestra de la(s) uña(s) afectada(s) con el fin de realizar un examen directo de control. La muestra obtenida y analizada al final del tratamiento tuvo como objetivo evaluar en el paciente el éxito o fracaso terapéutico.

4. Tamaño de la muestra

En el estudio se incluyeron un total de 181 pacientes. Inicialmente el cálculo del tamaño de muestra fue de 50 pacientes en cada uno de los grupos de tratamiento experimental y control. Sin embargo, al tratarse de un estudio con seguimiento durante seis meses, se agregó un 15% por las posibles pérdidas al desarrollar el estudio.

5. Variables

5.1 Variables independientes

- a) El tratamiento experimental consistió en un preparado farmacéutico con una presentación en frasco transparente de 3 mL que contenía el extracto hexano:acetato de etilo estandarizado de *A. pichinchensis* en solución laca a una concentración del 12.6 y 16.8%. Variable dicotómica. Escala 1 = Si; 0 = No.

- b) El tratamiento control consistió en un preparado farmacéutico con una presentación en frasco transparente de 3 mL que contenía ciclopirox al 8%. Variable dicotómica. Escala 1 = Si; 0 = No

5.2. Variables de desenlace primarias

- a) Efectividad terapéutica. Fue considerada como la mejoría clínica observada en el paciente al final del tratamiento y en cada cita mensual por medio de una ficha clínica exploratoria incluida en el expediente de cada uno de los pacientes. Variable dicotómica. Escala 1 = Si; 0 = No.

- b) Efectividad antimicótica. Fue considerada como la ausencia del agente patógeno causante de la onicomycosis en la muestra tomada de las uñas, una vez finalizado el tratamiento. Variable dicotómica. Escala: 1 = Si efectivo; 0 = No efectivo.

- c) Tolerabilidad terapéutica. Fue considerada como la ausencia total de efectos adversos o la presencia en forma esporádica y de escasa intensidad de algún signo o síntoma en el área de aplicación del medicamento, durante cualquier momento durante la duración del tratamiento. Variable dicotómica. Escala 1 = Si; 0 = No.

5.3. Variables de desenlace secundarias

- a) Éxito terapéutico. Se consideró en el momento que el paciente presentó efectividad terapéutica, además de un examen directo negativo y tolerabilidad terapéutica. Variable dicotómica. Escala: 1 = Si; 0 = No.
- b) Fracaso terapéutico. Cuando persistieron los signos y síntomas compatibles con onicomycosis, o la identificación del patógeno mediante microscopia directa en las muestras de uña de los participantes, también cuando el paciente hubiera presentado efectos adversos. Variable dicotómica. Escala: 1= Si; 0 = No.
- c) Intensidad de efectos adversos. Cada uno de los efectos adversos fue medido según su intensidad. Tipo de variable ordinal. Escala de medición 0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderada; 3 = severa.

6. Análisis de datos

Para el análisis estadístico los datos obtenidos de los expedientes de cada uno de los participantes se organizaron por grupos de tratamiento.

El procesamiento de la información se llevó a cabo mediante el programa estadístico STATA 9.1 (Hamilton LC, 2006). La estadística descriptiva se utilizó tanto para variables continuas como categóricas. La prueba de χ^2 fue utilizada para comparar la efectividad y tolerabilidad de los medicamentos utilizados en el estudio y para las variables categóricas. El análisis de varianza para variables continuas. La diferencia significativa entre grupos fue

considerada con valores de p menores o igual a 0.05 (Fleiss J, 1981; Snedecor G y Cochran W, 1972).

7. Examen directo observación microscópica de las muestras de uñas

Las muestras se tomaron únicamente de la(s) uña(s) afectada(s). Antes de iniciar el procedimiento, con la finalidad de limpiar la uña y disminuir al riesgo de generar una muestra contaminada, la uña fue aseada con metanol al 70%. Posteriormente, con una espátula roma o con alicatas se tomaron fracciones pequeñas de uña para depositarlas en un portaobjetos estéril. A la muestra se agregaba una gota de hidróxido de potasio (KOH) al 20%, se protegía con un cubreobjetos, se flameaba con la llama de un mechero y se procedía a la observación en un microscopio óptico con contraste de fases. La finalidad era identificar hifas y hacer el diagnóstico micológico de onicomycosis.

8. Cultivo micológico

De la muestra obtenida para realizar el examen directo, se tomaba una fracción moderada que era sembrada mediante una asa metálica en un medio de cultivo que contenía agar. El cultivo era incubado a temperatura ambiente y se analizaba entre 7 y 15 días después. Cuando había crecimiento de microorganismos se realizaba la identificación del patógeno a través de la morfología de la colonia y del microorganismo mediante la adición de azul de clonazol, que es un colorante que facilita la identificación de los hongos.

9. Aspectos éticos

El proyecto de investigación fue sometido a evaluación por el Comité Local de Investigación del Hospital Regional No.1 de Cuernavaca, Morelos. El proyecto autorizado fue registrado con el número: R-2007-1701-32.

En un estudio clínico realizado recientemente en pacientes con diagnóstico de *tinea pedis* los resultados demostraron que el extracto, al ser aplicado en la piel no produjo efectos adversos locales o sistémicos (Romero y col, 2006). Esta situación soporta el argumento de que al aplicar el extracto, en este caso sobre las uñas, tampoco producirá efectos adversos.

Todos los pacientes que participaron en la presente investigación firmaron una carta de consentimiento informado de acuerdo a la Declaración de Helsinki (Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, 1993). La información obtenida al desarrollar este estudio ha sido manejada en forma científica y confidencial. Ningún paciente fue incluido si no conocía en forma extensa en que consistía su participación, los antecedentes de los tratamientos, tiempo de duración del estudio, dosis a administrar y frecuencia de la misma, estudios de laboratorio a los que sería sometido. A todos los pacientes se les informó que contaban con la libertad de retirarse del estudio en el momento que deseara.

IX. RESULTADOS

a. Identificación del principio activo

Mediante un fraccionamiento biodirigido del extracto de *A. pichinchensis* fueron identificados compuestos que mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de los dermatofitos. El compuesto que resultó más activo fue identificado como enecalina (**Figura 4**) por los colaboradores del área de fitoquímica a través de técnicas de espectrometría como la RMN'H. La enecalina resultó ser el compuesto más activo contra cepas de *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* aunque no es la más abundante en el extracto.

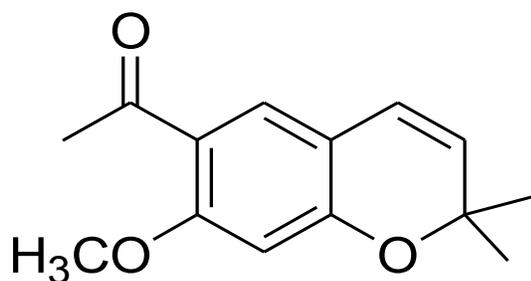


Figura 4. Estructura química de la enecalina

b. Obtención del fitomedicamento a diferentes concentraciones

El diseño del fitomedicamento, dio como resultado un medicamento similar a los que se encuentran incluidos dentro del cuadro básico del IMSS, su presentación final pueden ser apreciados en la **figura 5**.



Figura 5. Fitomedicamento que contiene extracto estandarizado de *Ageratina pichinchensis* en una formulación en laca para su administración local en uñas.

c. Obtención del medicamento control

El medicamento control fue mantenido en su frasco original, únicamente se retiró la etiqueta que lo identificaba como ciclopirox al 8% y en su lugar se le colocó otra semejante a las del tratamiento experimental y fue empacado en una caja igual al del fitomedicamento (ver **figura 6**).



Figura 6. Medicamento control (elaborado con ciclopirox al 8%) en una presentación idéntica al tratamiento experimental.

d.Efectividad y tolerabilidad terapéutica en pacientes con onicomiosis leve y moderada

Se incluyeron un total de 181 pacientes, 62 (34.3%) fueron tratados con el fitomedicamento de *A. pichinchensis* a una concentración al 12.6%, 60 (33.1%) recibieron tratamiento con el fitomedicamento de *A. pichinchensis* a una concentración al 16.8%, mientras que los 59 (32.5%) pacientes restantes recibieron el medicamento que contenía ciclopirox al 8%. La mayoría de los pacientes incluidos en el estudio fueron mujeres y la edad se encontró entre 19 y 65 años. Las frecuencias, porcentajes, medias y la desviación estándar se puede apreciar en la **tabla 3**, junto con otras variables personales y demográficas.

Tabla 3 Características personales y sociodemográficas de los pacientes incluidos en el estudio

Variables	<i>A. pichinchensis</i> 12.6%	<i>A. pichinchensis</i> 16.8%	Ciclopirox 8%	ANOVA <i>P</i>
	n = 62 Promedio/±DS	n = 60 Promedio/±DS	N = 59 Promedio/±DS	
Edad (años)	46.5/±11.8	45/±11.8	46.5/ ± 11	0.73
	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	Chi ² <i>p</i>
Sexo				
Masculino	13/20.9	15/25	11/18.6	0.69
Femenino	49/79	45/75	48/81.3	
Exposición a humedad				
Si	20/32.2	18/30	13/22	0.42
No	42/67.7	42/70	46/77.9	
Deportes				
Si	24/38.7	31/51.6	26/44	0.35
No	38/61.2	29/48.3	33/55.9	
Uso calzado cerrado				
Si	27/43.5	32/53.3	32/54.2	0.42
No	35/56.4	28/46.6	27/45.7	
Convivencia con animales				
Si	27/43.5	29/48.3	29/49.1	0.79
No	35/56.4	31/63.2	30/50.8	

En la **tabla 3** se puede observar que el promedio de edad en los pacientes se encontró entre los 45 y 46 años sin mostrar diferencias ($p = 0.73$) entre los grupos de tratamiento. Se observa además que la mayoría de los pacientes no contaba con el antecedente de la exposición continua a la humedad. La práctica de algún deporte aunque fue mayor en los pacientes que se aplicaron el fitomedicamento a una concentración de 16.8%, estadísticamente no hubo diferencia entre los grupos de estudio, el uso de calzado cerrado estuvo presente en la mayoría de los que conformaron el grupo que se administró el fitomedicamento al 16.8% y del control; en ninguno de los grupos predominó el convivir con animales. En todas las variables descritas, no se identificó diferencia entre los grupos.

Otras variables que se exploraron fueron las relacionadas con antecedentes patológicos, familiares y del padecimiento (**tabla 4**).

Tabla 4. Antecedentes patológicos, familiares y del padecimiento de los pacientes incluidos en el estudio

Variables	<i>A. pichinchensis</i> 12.6% <i>n</i> = 62	<i>A. pichinchensis</i> 16.8% <i>n</i> = 60	Ciclopirox 8% <i>n</i> = 59	
	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	Chi ² <i>p</i>
Comorbilidad				
Si	34/54.8	33/55	36/61	0.74
No	28/45.1	27/45	23/38.9	
Insf. venosa				
Si	42/67.7	35/58.3	37/62.7	0.56
No	20/32.2	25/41.6	22/37.2	
T. pedis				
Si	13/20.9	10/16.6	16/27.1	0.37
No	49/79	50/83.3	43/72.8	
Fam. con onicomicosis				
Si	34/54.8	38/63.3	39/66.1	0.41
No	28/45.1	22/36.6	20/33.8	
Tx para onicomicosis				
Si	33/53.2	36/60	42/71.1	0.12
No	29/46.7	24/40	17/28.8	

En la **tabla 4** se observa que la mayoría de los participantes cursaba con otro padecimiento además de la onicomycosis en el momento de ser incluido en el estudio, sin haber diferencia entre grupos ($p = 0.74$). La insuficiencia venosa periférica estaba presente en el mayor porcentaje de los participantes, aunque el valor de p , no mostró diferencia significativa entre los grupos ($p = 0.56$). Algunos pacientes incluidos en el estudio cursaban con *tinea pedis* de intensidad muy leve. En todos los grupos predominó la variable “contar con un familiar con onicomycosis”, pero sin mostrar diferencia significativa entre ellos ($p = 0.41$). Por la cronicidad que caracteriza al padecimiento la mayor proporción de los participantes, en algún momento de la evolución de su padecimiento, había recibido tratamiento antimicótico, siendo más alto en el grupo control, sin evidenciarse diferencia entre los grupos ($p = 0.12$).

Con relación a la evolución del padecimiento, en la mayoría de los pacientes fue crónica sin mostrar diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.52$) entre los grupos de estudio (**Tabla 5**). La mayoría de los pacientes incluidos en el estudio muestran que la evolución de su padecimiento era de más de un año y menor a 5 años. Los pacientes con una evolución del padecimiento menor a un año fue más escasa, mientras que los pacientes con un tiempo de evolución mayor a 5 años fueron muy pocos.

Tabla 5. Frecuencia y porcentaje del tiempo de evolución de la onicomicosis en los pacientes que participaron en el estudio.

Evolución/ Tratamiento	< 1 o un año	> a 1 hasta 5 años	>de 5 hasta 10 años	> de 10 años	Chi ² <i>p</i>
<i>A. pichinchensis</i> 12.6% n = 62	18/29	30/48.4	5/8	9/14.5	
<i>A. pichinchensis</i> 16.8% n = 60	21/35	24/40	9/15	6/10	0.52
Ciclopirox 8% n = 59	15/25.4	25/42.3	7/11.9	12/20.3	

El número de uñas afectadas en los pacientes al momento de su ingreso al estudio fue muy variable, presentando desde una hasta diez uñas afectadas, esta variable no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos $p = 0.21$ (**Tabla 6**).

En la tabla seis se identifica que: cuatro uñas afectadas por onicomicosis fue una proporción alta entre los pacientes incluidos en los tres grupos. Sin embargo, en el grupo que recibió tratamiento experimental al 16.8% el mayor número de pacientes tenía afectadas seis uñas y, en el grupo que se administró el tratamiento control, la mayor proporción de pacientes presentaba tres uñas afectadas.

Tabla 6. Número de uñas afectadas en los pacientes al ingresar al estudio

Variable	<i>A. pichinchensis</i> 12.6% n = 62	<i>A. pichinchensis</i> 16.8% n = 60	Ciclopirox 8% N = 59	
Uñas afectadas	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	
<i>Chi</i> ²				
<i>P</i>				
1	7/11.3	5/8.3	2/3.4	
2	5/8	5/8.3	3/5	
3	6/9.7	4/6.6	13/22	
4	16/25.8	10/16.6	11/18.6	
5	5/8	9/15	9/15.3	0.21
6	3/4.8	12/20	6/10.2	
7	3/4.8	4/6.7	5/8.5	
8	6/9.7	3/5	5/8.5	
9	7/11.3	4/6.7	3/5	
10	4/6.5	4/6.7	2/3.4	

La severidad del cuadro clínico fue evaluado en todos los pacientes que ingresaron al estudio. Los valores se ilustran en la **figura 7**, donde puede apreciarse que la severidad fue semejante entre los grupos al no encontrarse diferencia significativa ($p = 0.37$). La gráfica muestra además que el estadio moderado predominó en los tres grupos de tratamiento, aunque fue ligeramente mayor en el grupo que se aplicó el fitomedicamento a una concentración del 12.6%, sin mostrar diferencia estadísticamente significativa.

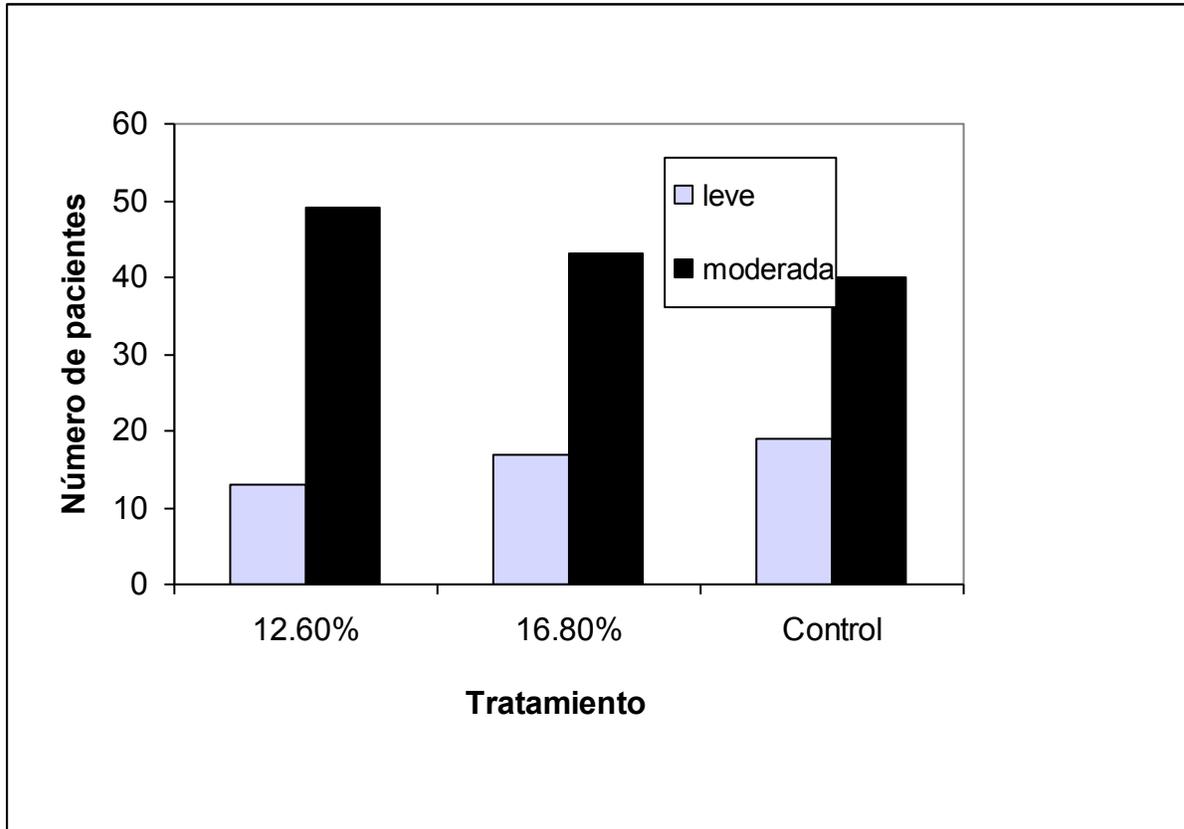


Figura 7. Severidad del cuadro clínico de onicomicosis entre los grupos de estudio al inicio del tratamiento.

El engrosamiento de las uñas producido por onicomicosis se identificó en la mayoría de los participantes, únicamente en cuatro pacientes de la muestra total no se detectó dicho signo. La distribución por grupo fue la siguiente: un paciente en el grupo experimental al que se le administró la concentración menor del fitomedicamento, uno en el grupo control y dos pacientes del grupo al que se le administró el fitomedicamento a la concentración más alta.

El cambio de coloración en la uña estuvo presente en el total de los pacientes incluidos en el grupo control y en el grupo al que se le administró el fitomedicamento a una concentración del 12.6%; mientras que en el grupo compuesto por pacientes a quienes se les administró el fitomedicamento a una concentración del 16.8%, el 98.3% presentaba este signo.

Al finalizar el tratamiento, el número de participantes se redujo a 148 pacientes, alcanzando una disminución total de 18.2% del total de la muestra. La distribución por grupo

de tratamiento fue la siguiente: el grupo que fue tratado con el fitomedicamento al 12.6% concluyó con 55 pacientes, el grupo que recibió el fitomedicamento al 16.8% concluyó con 48 pacientes, mientras que el grupo control terminó con 45.

Una vez concluido el tiempo de tratamiento se observó una reducción en el número de uñas afectadas en los pacientes incluidos en los tres grupos, sin que se identificara diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.37$), entre los grupos (**Tabla 7**).

Tabla 7. Frecuencia y porcentaje del número de uñas afectadas con onicomicosis leve y moderada al final del tratamiento, con dos diferentes concentraciones del extracto estandarizado de *A. pichinchensis* y con el tratamiento control

Variable	<i>A. pichinchensis</i> 12.6% n = 55	<i>A. pichinchensis</i> 16.8% n = 48	Ciclopirox 8% n = 45	
Uñas afectadas	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	Frecuencia/porcentaje	Chi^2 P
0	37 (67.2)	38 (79.1)	36(80)	
1	1 (1.9)	1 (2)	1(2.2)	
2	1 (1.9)	0 (0)	1(2.2)	
3	3 (5.4)	0 (0)	1(2.2)	
4	3 (5.4)	2 (4.3)	2(4.4)	0.37
5	1 (1.9)	3 (6.2)	2(4.4)	
6	2 (3.6)	2 (4.3)	1(0)	
7	3 (5.4)	0 (0)	0(0)	
8	3 (5.4)	1 (2)	0(0)	
9	0 (0)	1 (2)	0(0)	
10	1 (1.9)	0 (0)	1(2.2)	

En la tabla anterior se observa el número de uñas que quedaron afectadas al final del tratamiento, además de cuantos pacientes terminaron el tratamiento, pudiéndose observar muestra como el número de uñas afectadas disminuyó durante el tratamiento. Una gran

proporción de los pacientes de los tres grupos se encontró al final del tratamiento sin uñas afectadas.

Los resultados relacionados con la severidad del padecimiento, también fueron evaluados al final del tratamiento. En la **tabla 8** se observa que esta variable si fue diferente estadísticamente entre los grupos de estudio ($p = 0.010$)

Tabla 8. Severidad del cuadro clínico de pacientes con onicomicosis incluidos en el estudio después de seis meses de tratamiento.

Tratamiento	Saludables	Leve	Moderado	Chi ² P
	Frecuencia / porcentaje	Frecuencia / porcentaje	Frecuencia / porcentaje	
<i>A.pichinchensis</i> 12.6% n = 55	37 / 67.2	3/5.4	15 / 27.2	
<i>A.pichinchensis</i> 16.8% n = 48	38 / 79.1	7 / 14.5	3 / 6.3	0.010
Ciclopirox 8% n = 45	36/80	5/11.1	4/8.8	

En la **tabla 8** se observa con claridad como después de recibir el tratamiento hay un número importante de pacientes que lograron la ausencia de síntomas y signos de la enfermedad. El número de pacientes que tuvieron las uñas sanas es similar en los tres grupos de tratamiento. Sin embargo, se observa que existe una diferencia interesante en el número de pacientes que se encuentran en el estadio moderado, el cuál fue mayor en el grupo de pacientes que fue tratado con el fitomedicamento con la concentración al 12.6%.

El examen directo a través de la microscopia óptica demostró que en todos los pacientes cuyas uñas no mostraban signos compatibles con onicomicosis el resultado de la

observación se reportó negativa a hongos. Esto significa que todos los pacientes que alcanzaron la efectividad terapéutica también lograron la efectividad micológica.

Los tres tratamientos fueron bien tolerados por los participantes ya que ningún paciente presentó, durante el tiempo de tratamiento, algún efecto adverso.

Al no identificarse efectos adversos por la aplicación de los medicamentos en forma tópica en onicomycosis leve y moderada, además de la ausencia de cuadro clínico compatible con la enfermedad y la no identificación de patógenos causantes de las misma, se puede decir que el éxito terapéutico para el grupo al que se administró el fitomedicamento a una concentración del 12.6% fue del 67.2%; para el grupo al que se le administró el medicamento a una concentración del 16.8% fue del 79.1% y para el grupo control fue del 80%.

X. DISCUSIÓN

Los resultados en conjunto demuestran que el fitomedicamento elaborado con el extracto estandarizado de *Ageratina pichinchensis* constituye una alternativa médica interesante con un importante componente innovador que, a través de un estudio clínico doblemente cegado que comparó su efecto con el producido por el ciclopirox (un medicamento líder en el mercado), demostró ser efectivo, tolerable y seguro en el tratamiento de pacientes que padecen onicomiosis leve y moderada. Además de lo anterior, el estudio clínico realizado comparó los efectos producidos por dos diferentes concentraciones del extracto activo estandarizado, lo que nos permitió identificar la concentración óptima del medicamento para alcanzar mejores valores de efectividad terapéutica, además de mantener una adecuada tolerabilidad y ofrecer a los pacientes un recurso que evite la evolución de la enfermedad, la cual podría llegar a desencadenar una onicomiosis distrófica y, consecuentemente, afectar su calidad de vida.

Con relación a la severidad de las manifestaciones clínicas, el número de pacientes que tenían onicomiosis leve y moderada, independientemente del tratamiento asignado, fue similar antes de iniciar el estudio. Sin embargo, es importante resaltar como después de 6 meses de tratamiento, a pesar de que el número de pacientes que alcanzaron la condición de saludables fue similar en los diferentes grupos, una diferencia importante fue observada en los pacientes que mantuvieron el grado moderado: 15 en el grupo de 12.6%, 4 en el grupo de ciclopirox y 3 en el grupo de 16.8%. Este resultado demuestra que la concentración más alta (16.8%) del extracto vegetal posee una mayor efectividad.

Al finalizar el estudio y realizar el análisis estadístico se observó que el 15.6% de los pacientes abandonó el estudio, en todos los casos la causa del abandono se debió a aspectos no médicos. Este porcentaje de abandono puede considerarse normal en estudios que, como este, implican un seguimiento durante seis meses; tiempo durante el cuál pueden ocurrir diferentes cambios en aspectos personales como cambio de residencia, reubicación laboral, etc.

Durante todo el estudio se mantuvo vigilancia ante la posibilidad de la presencia de efectos adversos, sin embargo, en ninguno de los grupos de estudio fueron detectados, alcanzando un 100% de tolerabilidad en todos los tratamientos. Al considerar como éxito terapéutico cuando el paciente logra la efectividad terapéutica, además de la ausencia de

hongos en el examen directo final y la ausencia de efectos adversos, el éxito terapéutico logrado por el fitomedicamento con una concentración de extracto al 12.6% fue del 67.2%, mientras que para la concentración al 16.8% fue del 79.1% y para el grupo control del 80%.

En un estudio clínico previo, Romero-Cerecero O y col, (2008) reportaron la evaluación de un producto similar en laca para la administración tópica, pero que contenía el extracto estandarizado de *A. pichinchensis* con una concentración al 10%. Este producto, también administrado durante seis meses, mostró un éxito terapéutico del 55.1%; valor que se mejoró considerablemente con la concentración de extracto utilizada en el presente estudio. En ambos estudios los efectos producidos por el extracto estandarizado fueron comparados con los efectos del ciclopirox al 8%. Pudiera argumentarse que la concentración del compuesto activo contenida en el medicamento con ciclopirox (8%) es inferior a la que fue utilizada en el fitomedicamento (10, 12.6 y 16.8%), sin embargo, si consideramos la cantidad de compuesto activo que se encuentra en los tratamientos experimentales, tendríamos en realidad concentraciones considerablemente más bajas en los fitomedicamentos (1.43, 1.81 y 2.41 % de enecalina en el extracto al 10, 12.6 y 16.8%, respectivamente).

Otros aspectos de interés, reportados anteriormente por otros autores, fueron confirmados en este estudio. Los datos recabados dejan ver que el padecimiento produce un importante impacto emocional en las personas que lo padecen, que el alto índice de abandono al tratamiento es debido al desánimo que se produce el no tener una mejoría del padecimiento con la rapidez deseada, a la duración del tratamiento y, especialmente, a los efectos adversos que provocan los medicamentos antimicóticos administrados por vía oral; lo que por separado o en conjunto permite la evolución de la enfermedad a etapas más severas en las que el tratamiento se torna muy difícil. Estos resultados coinciden con los de otros autores que han reportado la misma problemática en su población de estudio (Szepietowski JC y Reich A, 2008; Nunley KS y Cornelius L, 2008) y difieren con opiniones publicadas en donde se manifiesta, que la onicomiosis no tiene ninguna repercusión sobre la población que la padece, y que además sugieren evitar el tratamiento ante mayor posibilidad de riesgos que beneficios (Sin lista de autores, 2009).

Se identificó, al igual que en reportes anteriores, la importancia que tiene la intervención oportuna del médico de primer nivel de atención, identificación, diagnóstico y

tratamiento del padecimiento (Guibal F y col, 2008), especialmente con el fin de que la enfermedad tenga un mejor pronóstico y tal vez lograr disminuir su prevalencia.

Es importante también manifestar que, de acuerdo a los resultados y con otros autores, el tratamiento tópico de la onicomicosis puede ser efectivo cuando el cuadro clínico de onicomicosis se encuentra en un grado de severidad leve y moderado (Cohen PR y Scher RK, 1994; Baran R y col, 2008). Lo que corresponde en los casos en los que la uña no ha sido afectada en su raíz y la hiperqueratosis del plato ungueal no es severa. En los casos de onicomicosis severa es recomendable utilizar además medicamentos administrados por la vía oral (Barba R y col, 2007). Para incrementar la efectividad del tratamiento tópico en onicomicosis existen medidas sencillas, útiles y recomendables que pudieran combinarse: apego estricto al medicamento, mantener permeable la superficie de la uña, realizar cada semana abrasión de la superficie de la uña, además de medidas higiénicas generales.

Como resultado de las observaciones realizadas en cada una de las consultas de control a los pacientes, se observó que la evolución del padecimiento hacia la mejoría, tendió a mostrar un patrón de respuesta al tratamiento, los cambios en la coloración de la uña fueron los primeros en aparecer como consecuencia del tratamiento; el color se fue tornando más claro, aproximadamente a los dos meses de administración del tratamiento, hasta adquirir paulatinamente la coloración de una uña sana. La hiperqueratosis mostró una respuesta más lenta al tratamiento, sobre todo en los pacientes donde el estadio de la patología fue moderado, al final del tratamiento en algunos pacientes que cursaban con esta forma clínica de onicomicosis, no recuperaron la apariencia normal de la uña.

Los resultados mostraron (datos no ilustrados) que la efectividad de los tratamientos por vía tópica en este padecimiento fue independiente del número de uñas afectadas. Un paciente con las diez uñas afectadas puede tener la misma efectividad que un paciente que tiene un número menor. Mediante el monitoreo continuo de los pacientes se pudo constatar que si un paciente tiene el total de sus uñas afectadas, solamente responde con mayor lentitud al tratamiento, pero si es disciplinado en la aplicación del medicamento y sigue las indicaciones que van a la par con el tratamiento médico, puede tener la misma efectividad que un paciente cuya afectación es menor. Con esta observación se difiere de datos publicados en donde se manifiesta que el número de uñas afectadas en el paciente también es una pauta para considerar adicionar al tratamiento tópico uno sistémico (Barber MD y Barber J, 2009;

Shemer A y col, 2008). Sin embargo, es importante señalar aquí que son poco frecuentes los casos de onicomicosis leve o moderada que presentan afectación de todas la uñas.

Es definitivo que el tiempo de duración del tratamiento en onicomicosis debe ser prolongado, si se quiere tener una alta probabilidad de remisión del padecimiento; como resultado de las observaciones realizadas en el desarrollo del estudio, se detectó que pacientes con tres meses de tratamiento y con una remisión total de cuadro clínico, aún presentaban presencia de hongos evidenciado por el examen directo por observación microscópica de una muestra de uña.

XI. CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, el fitomedicamento elaborado con el extracto estandarizado de *A. pichinchensis* (con una concentración al 12.6% y 16.8%) estandarizado en su contenido de enecalina y en una presentación en laca para la administración tópica durante seis meses en pacientes con onicomiosis leve y moderada mostró efectividad terapéutica y micológica similar a la alcanzada por el medicamento elaborado con ciclopirox al 8%. Además de lo anterior, no se detectó la presencia de ningún caso de efectos adversos y fue posible establecer que la concentración más alta del extracto (16.8%) presenta una mayor efectividad conservando la tolerabilidad.

XII. BIBLIOGRAFÍA

Adhikari L, Das G, Pal R, Sinhg TS. Clinic-etiological correlates of onychomycosis in Sikkim. *Indian J Pathol Microbiol* 2009; 52: 194-197.

Allan E. Plant cell culture. In: *Plant Cell and Tissue Culture*. Strafford and Warren. Eds. Open University Press 1991: 1-23.

Apodaca G, McKerrow JH. Purification and characterization of 27,000-MT extracellular proteinase from *Trichophyton rubrum*. *Infection and Immunity* 1989; 57: 3072-3080.

Apodaca G, McKerrow JH. Regulation of *Trichophyton rubrum* proteolytic activity. *Infection and Immunity* 1989; 57: 3081-3090.

Arenas R. Dermatophytoses in Mexico. *Revista Iberoamericana de Micología* 2002; 19: 63-67.

Argueta A, Cano L, Rodarte M. *Atlas de La Medicina Tradicional Mexicana*, tomo 1-3 Instituto Nacional Indigenista, México D.F. 1994; 1786.

Arrese JE, Valverde JC, Pierard GE. Un nuevo enfoque sobre la epidemiología de las onicomycosis. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 163-166.

Avilés M, Suárez G. *Catálogo de Plantas Medicinales Jardín Etnobotánico*. Centro INAH, Cuernavaca, Morelos, México 1994: 47.

Ballesté R, Fernández N, Mousqués N, Xavier B, Arteta Z, Mernes M, Gezuele E. Dermatofitosis en población asistida en el Instituto de Higiene. *Revista Médica Uruguay* 2000; 16: 232-242.

Ballesté R, Mousqués N, Gezuele E. Onicomycosis. Revisión del tema. *Revista médica de Uruguay* 2003; 19: 93-106.

Baran A, Hay RJ, Tosti A, Haneke E. A new classification of onychomycosis. *Br J Dermatol* 1998; 139: 567-57.

Baran R, Gupta AK, Pierard GE. Pharmacotherapy of onychomycosis. *Expert Opinion Pharmacother* 2005; 6: 609-624.

Baran R, Hay RJ, Garduno JI. Review of antifungal therapy and the severity index for assessing onychomycosis: part I. *J Dermatolog Treat* 2008; 19: 72-81.

Baran R, Hay RJ, Garduno JI. Review of antifungal therapy, part II: treatment rationale, including specific patient populations. *J Dermatolog Treat* 2008; 19: 168-175.

Baran R, Sigurgeirsson B, de Berker D, Kaufmann R, Lecha M, Faergemann J, Kerrouche N, Sidou F. A multicentre, randomized, controlled study of the efficacy, safety and cost-effectiveness of a combination therapy with amorfoline nail lacquer and oral terbinafine compared with oral terbinafine alone for treatment of onychomycosis with matrix involvement. *Br J Dermatol* 2007; 157: 149-157.

Barber MD, Barber J. Onychomycosis: Therapy directed by morphology and mycology. *Skin Therapy Lett* 2009; 14: 1-2.

Barrera VM, Tejera VA, Mendiola FM, Cid J, Cabra LB, Herrera CE. Diagnosis utility of nail biopsy: a study of 15 cases. *Actas Dermosifiliogr* 2008; 99: 621-627.

Bonifaz A, Ibarra G. Onychomycosis in children: treatment with bifonazole-urea. *Pediatr Dermatol* 2000; 17: 310-314.

Boonchai W, Kulthanan K, Maungprasat C, Suthipinittham P. Clinical characteristics and mycology of onychomycosis in autoimmune patients. *J Med Assoc Thai* 2003; 86: 995-1000.

Bristow IR, Spruce MC. Fungal foot infection, cellulitis and diabetes: a review. *Diabet Med* 2009; 26: 548-551.

Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiología médica de Jawest, Melnick Adelberg, editorial Manual Moderno, 17ª edición, 2002: 661.

Cedeño L, Vázquez del Mercado E, Arenas R. Onicomycosis en pacientes geriátricos. *Dermatología cosmética, médica y quirúrgica*. Obtenido de [http://. dcmq.com.mx.](http://dcmq.com.mx), consultado en agosto 2005.

Chinelli PA, Sofiatti Ade A, Nunes RS, Martins JE. Dermatophyte agents in the city of Sao Paulo, from 1992 to 2002. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2003; 45: 259-263.

Comisión Permanente FEUM. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, octava edición 2004; Volumen. Aditivos: 719-720.

De Wikipedia, la enciclopedia libre. Uña. Obtenido de [http://es. Wikipedia.org/wiki](http://es.wikipedia.org/wiki), consultada en diciembre 2008.

Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Recomendaciones para orientar a los médicos en la investigación biomédica con seres humanos, adoptadas por la 18a Asamblea Médica Mundial Helsinki, Finlandia, junio de 1964 y enmendadas por la 29a Asamblea Médica Mundial Tokio, Japón, octubre de 1975, por la 35a Asamblea Médica Mundial Venecia, Italia, octubre de 1983 y por la 41a Asamblea Médica Mundial Hong Kong, en septiembre de 1989. Ver en: *Pautas Éticas Internacionales para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos*. ISBN 92 9036 056 Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS), 1993, Ginebra: 53-56.

Del Palacio A, Pereiro-Miguens M, Gimeno C, Cuétara MS, Rubio R, Costa R, Romero G. Widespread dermatophytosis due to *Microsporum* (*Trychophyton*) *gallinae* in a patient with AIDS-a case report from Spain. *Clin Exp Dermatol* 1992; 17: 449-453.

Detandt M, Nolard N. Fungal contamination of the floors of swimming pools, particularly subtropical swimming paradises. *Mycoses* 1995; 38: 509-513.

Drake LA, Scher RK, Smith EB, Faich GA, Smith SL, Hong JJ, Stiller MJ. Effect of onychomycosis on quality of life. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 702-704.

Elewski BE, Charif MA. Prevalence of onychomycosis in patients attending a dermatology clinic in north eastern Ohio for other conditions. *Arch Dermatol* 1997; 133: 1172-1173.

Elewski BE. Onychomycosis: patogénesis, diagnosis, and management. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 415-429.

Evans EG. Caqusative pathogens in onychomycosis and the possibility of treatment resistance: a review. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: S32-36.

Faergemann J, Baran R. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis. *J Dermatol* 2003; 149 Suppl 65: 1-4.

Fleiss J. Statical methods for rates and proportions. 2nd Ed. John Willey & Sons, New York, 1981.

Fletcher CL, Hay RJ, Smeeton NC. Onychomycosis: the development of a clinical diagnostic aid for toenail disease. Part I. Establishing discriminating historical and clinical features. *Br J Dermatol* 2004; 150: 701-705.

Gayoso CW, Lima EO, Oliveira VT, Pereira FO, Souza EL, Lima IO, Navarro DF. Sensitivity of fungi isolted from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata* essencial oil and eugenol. *Fitoterapia* 2005; 76: 247-249.

Ghannoum, MA, Hossain MA, Long L, Mohamed S, Reyes G, Mukherjee PK. Evaluation of antifungal efficacy in an optimized animal model of *Trichophyton mentagrophytes*-dermatophytosis. J Chemother 2004; 16: 139-144.

Gómez F, Quijano L, Calderón JS, Perales A, Rios T. 2, 2-Dimethylchromenes from *Eupatorium aschembornianum*. Phytochemistry 1982; 21: 2095-2097.

Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica, vol II, décima edición. Mc Graw Hill. México 2003: 1317-1327.

Guibal F, Baran R, Duhard E, Feuilhade de Chauvin M. Epidemiology and management of onychomycosis in private dermatological practice in France. Ann Dermatol Venereol 2008; 135: 561-566.

Gupta AK, Bluhm R. Ciclopirox (Loprox) gel for superficial fungal infections. Skin Therapy Letter 2004; 9: 4-5.

Gupta AK, Cooper EA, Ryder JE, Nicol KA, Chow M, Chaudhry MM. Optimal management of fungal infections of the skin, hair, and nails. Am J Clin Dermatol 2004; 5: 225-237.

Gupta AK, Fleckman P, Baran R. Ciclopirox nail lacquer topical solution 8% in the treatment of toenail onychomycosis. J Am Acad Dermatol 2000; 43(4Pt 2): S70-S80.

Gupta AK, Joseph WS. Ciclopirox 8% nail lacquer in the treatment of onychomycosis of the toenail in the United States. J Am Podiatr Med Assoc 2000; 90: 495-501.

Gupta AK, Ryder JE, Johnson AM. Cumulative meta-analysis of systemic antifungal agents for the treatment of onychomycosis. Br J Dermatol 2004; 150: 537-544.

Gupta AK. Onychomycosis in the elderly. Drugs Aging 2000; 16: 397-407.

Hamilton LC. Statistics with STATA: updated for version 9. 2006 Duxbury, an imprint of Thomson Brooks/Cole, a part of the Thompson Corporation.

Heikkila H, Stubbs S. The prevalence of onychomycosis in Finland. *Br J Dermatol* 1995; 133: 699-703.

Heinke Vibrans URL (ed). Última modificación 2007, Malezas de México. Agosto 2009.

Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. Zinsser Microbiología, editorial panamericana, 20ª edición, 1998: 1427-1440.

Kalinowski DP, Edsberg LE, Hewson RA, Johnson RH, Brogan MS. Low voltage direct current as a fungicidal agent for treating onychomycosis. *J Am Podiatr Med Assoc* 2004; 94: 565-572.

Katsambas A, Abecé D, Haneke E, van de Kerkhof P, Burzykowski T, Molenberghs G, Marynussen G. The effects of foot disease on quality of life: results of the Achilles Project. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19: 191-195.

Katzung Bertram G. Farmacología Básica y Clínicas. Editorial Manual Moderno, novena edición 2005: 785.

Katzung Bertram G. Farmacología Básica y Clínicas. Editorial Manual Moderno, novena edición 2005: 1010.

Kaur R, Kashyap B, Bhalla P. Onychomycosis-epidemiology, diagnosis and management. *Indian J Med Microbiol* 2008; 26: 108-116.

Kwon KS, Jang HS, Son HS, Oh CK, Kwon YW, Kim KH, Suh SB. Widespread and invasive *Trichophyton rubrum* infection mimicking Kaposi's sarcoma in a patient with AIDS. *J Dermatol* 2004; 31: 839-843.

Lecha M, Efendy I, Feuilhade de Chauvin M, DI Chiacchio N, Baran R; Taskforce on Onychomycosis Education. Treatment options development of consensus guidelines. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19 Suppl 1: 25-33.

Lewis JH, Zimmerman HJ, Benson GD, Isaac G. Hepatic injury associated with ketokonazole therapy: analysis of 33 cases. *Gastroenterology* 1984; 86: 503-513.

Llambrich A, Lecha M. Tratamiento actual de las onicomicosis. *Revista Iberoamericana de Micología* 2002; 19: 127-129.

López JO, Torres RJ. Especies fúngicas poco responsables de onicomicosis. *Revista Iberoamericana de Micología* 1999; 16: S11-S15.

Maestre JR, Cervera A. Ventajas y desventajas de los antifúngicos de uso tópico. *Revista Española de Quimioterapia* 2001; 4. Consultada en abril 2007.

Martínez A, Arenas R. Atlas clínico y terapéutico, dermatofitosis superficiales: clasificación y agentes etiológicos. Fascículo 3 y 4. México 2003: 2-9.

Mayser P, Freund V, Budihardja D. Toenail onychomycosis in diabetic patients: issues and management. *Am J Clin Dermatol* 2009; 10: 211-220.

Meevootisom V, Niederpruem DJ. Control of exocellular proteases in dermatophytes and especially *Trichophyton rubrum*. *Sabouraudia* 1979; 17: 91-106.

Mignon BR, Losson BJ. Prevalence and characterization of *Microsporum canis* carriage in cats. *J Med Vet Mycol* 1997; 35: 249-256.

Mignon BR, Nikkels AF, Piérard GE, Losson BJ. The in vitro and in vivo production of a 31.5-kD keratinolytic subtilase from *Microsporum canis* and the clinical status in naturally infected cats. *Dermatology* 1998; 196: 438-431.

Mochizuki T, Kawasaki M, Tanabe H, Ishizaki H. A nail drilling method suitable for the diagnosis of onychomycosis. *J Dermatol* 2005; 32: 108-113.

Monroy OC, Castillo EP. Plantas medicinales utilizadas en Morelos, Centro de Investigaciones Biológicas Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México, 2000: 61-62.

Murashige T. Plant propagation through tissue culture. *Annual Review of Plant Physiology* 1974; 25: 135-166.

Navarro VM, García A, González M, Fuentes A, Aviles M, Rios Y, Zepeda G, Rojas MG. Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 87: 85-88.

No authors listed. Fungal nail infections: diagnosis and management. *Prescrire Int* 2009; 18: 26-30.

Nunley KS, Cornelius L. Current management of onychomycosis. *J Hand Surg Am* 2008; 33: 1211-1214.

Rashid A, Scott E, Richardson MD. Early events the invasion of the human nail plate by *Trichophyton mentagrophytes*. *Br J Dermatol* 1995; 133: 932-940.

Rios MY, Aguilar-Guadarrama B, Navarro VM. Two new benzofuranes from *Eupatorium aschenbornianum* and their antimicrobial activity. *Planta Medica* 2003; 69: 967-970.

Rippon JW. Tratado de Micología Médica, 3ra edición capítulo 8; Interamericana MC. Graw-Hill, México 1990: 186-202.

Robbins JM. Recognizing, treating, and preventing common foot problems. Clinical Journal of Medicine 2000; 67: 45-56.

Roberts DT, Taylor WD, Boyle J. Guidelines for treatment of onychomycosis. Br J Dermatol 2003; 148: 402-410.

Roberts DT. Onychomycosis: current treatment and future challenges. J Dermatol 1999; 141 Suppl 56: 1-4.

Romero CO, Rojas G, Navarro V, Herrera AA, Zamilpa AA, Tortoriello J. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Ageratina pichinchensis* on patients with *tinea pedis*. A double blind clinical trial. Planta Medica 2006; 72(14): 1257-1261.

Romero CO, Zamilpa A, Jiménez FJE, Rojas BG, Román RR, Tortoriello J. Double-blind clinical trial for evaluating the effectiveness and tolerability of *Ageratina pichinchensis* extract on patients with mild to moderate onychomycosis. A comparative study with ciclopirox. Planta Medica 2008; 74(12):1430-5.

Roujeau JC, Sigurgeirsson B, Korting HC, Kerl H, Paul C. Chronic dermatomycoses of the foot as risk factors for acute bacterial cellulitis of the leg: a case-control study. Dermatology 2004, 209: 301-307.

Ryder NS, Leitner I. *In vitro* activity of terbinafine; an update. J Dermatolog Treat 1998; 9: S23-28.

Sánchez JL, Obón L, Pont V. Tratamiento actual de las micosis superficiales. Revista Iberoamericana de Micología 1999; 16: 26-30.

Shemer A, Davidovicini B, Grunwald MH, Trau H, Amichai B. Comparative study of nail sampling techniques in onychomycosis. *J Dermatol* 2009; 36: 410-414.

Shemer A, Trau H, Davidovici B, Amichai B, Grunwald MH. Onychomycosis: rationalization of topical treatment. *Isr Med Assoc J* 2008; 10: 425-416.

Shemer A, Trau H, Davidovici B, Grunwald MH, Amichai B. Onychomycosis due to artificial nails. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22: 998-1000.

Sidou F, Soto P. A randomized comparison of nail surface remanence of three nail lacquers, containing amorfiline 5%, ciclopirox 8% or triconazole 28%, in healthyvolunteers. *Int J Tissue React* 2004; 26: 17-24.

Sigurgeirsson B, Steingrimsson O. Risk factors associated with onychomycosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; 18: 48-51.

Simpanya MF, Baxter M. Multiple proteinases from two *Microsporum* species. *J Med Vet Mycol* 1996; 34: 31-36.

Snedecor G, Cochran W. *Statistical methods*. The Iowa State University Press, 6th Ed. Ames, Iowa, 1972.

Szepietowski JC, Reich A; for the National Quality of Life in Dermatology Group. Stigmatisation in onychomycosis patients: a population-based study. *Mycoses* 2008; 12: Epub ahead of print.

Tasic S, Stojanovic S, Poljacki M. Etiopathogenesis, clinical picture and diagnosis of onychomycoses. *Med Pregl* 2001; 54:45-51.

Villareal ML, Muñoz J. Studies on the medicinal properties of *Solanum chrysotrichum* in tissue culture: I. Callus formation and plant induction from axillary buds. Archives of Medical Research 1991; 22: 127.

Villareal ML, Rojas G. *In vitro* propagation of *Mimosa tenuiflora* (Willd). Poiret, a Mexican medicinal tree. Plant Cell Rep 1996; 16: 80-82.

ANEXO I

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

1. Identificadores

Evaluación clínica de un extracto estandarizado de *Ageratina pichinchensis* como tratamiento de la onicomycosis leve y moderada

2. Propósito del estudio

Estimado derechohabiente, lo invitamos a participar en un estudio clínico que se desarrollará en el Área de Investigación, ubicada en el tercer piso de este hospital. El estudio consiste en evaluar un medicamento elaborado con una planta medicinal, llamada científicamente *A. pichinchensis*, en pacientes que cursen con onicomycosis de uñas de pies en sus estadios leve y moderada. Esta planta es utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar los hongos de la piel. La invitación se está haciendo a personas que como usted presentan la enfermedad. La finalidad del estudio es demostrar que el medicamento mejora los síntomas de la onicomycosis y que pudiera llegar a considerarse una alternativa para tratar este padecimiento.

En el proyecto se invitará a participar a 150 pacientes que en el momento cursen con onicomycosis en uñas de los pies en su estadio leve y moderado, reúnan los requisitos necesarios para poder ingresar y que en forma voluntaria quieran participar.

Los posibles candidatos a participar en el estudio deben ser derechohabientes del IMSS y vivir en el estado de Morelos.

3. Procedimientos

Su participación consistirá en:

- a) Permitir que se le realice una historia clínica que incluirá exploración física, con el objetivo de realizar el diagnóstico clínico de su padecimiento, además de corroborar que sea candidato a participar en el estudio.

- b) Permitir que se tome una muestra de las uñas de sus pies para: a) hacer el diagnóstico micológico de su padecimiento.
- c) corroborar al final de tratamiento si aún se identifica en su uñas la presencia de los hongos que causan la enfermedad, de esta forma llevar un mejor seguimiento y control de la evolución de su padecimiento.
- d) En este estudio habrá dos tipos de tratamiento: 1) uno que consistirá en la administración de un medicamento elaborado con la planta a diferentes concentraciones y 2) otro que consiste en un medicamento que contiene ciclopirox al 8%, que es una sustancia utilizada para tratar a los hongos. A usted le podrá tocar cualquiera de los dos, no es posible que escoja usted el tratamiento.
- e) El medicamento se lo administrará durante seis meses, tiempo que nos permitirá valorar la efectividad del fitomedicamento.
- f) Para tener un control adecuado de su padecimiento así como de su evolución, se le citará cada mes.
- g) La aplicación del medicamento debe ser continua, por esta razón le pedimos que si se le termina el medicamento, acuda al consultorio de investigación aún sin cita, para proporcionarle más.

4. Posibles riesgos y molestias

Se ha comprobado que la aplicación en las uñas de cualquiera de los dos tratamientos no causa molestias. Para tener control sobre posibles efectos adversos se le entregará una tarjeta donde usted anotará las molestias que le pudiera producir el medicamento, la información contenida en esta tarjeta la entregará en cada cita.

En caso de tener alguna molestia por la aplicación del medicamento debe de tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

1. Si la molestia se presenta más de una vez deje de aplicarse el medicamento y acuda al consultorio.
2. Si la molestia es importante debe de acudir inmediatamente al consultorio.

5. Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio

Su participación en el estudio no implica gasto para usted, tampoco recibirá algún pago.

A los participantes se les proporcionará un tratamiento que tendrá como objetivo la curación su padecimiento en las uñas. El tratamiento tendrá una estricta supervisión de personal especializado, el cual se encargará de informarle sobre la evolución de su padecimiento el tiempo que dure su participación.

Si bien su participación en el estudio no conlleva beneficios directos, usted estará contribuyendo al avance del conocimiento sobre el tratamiento de esta enfermedad.

6. Resultados o información nueva sobre alternativas de tratamiento

Durante el tiempo que dure su participación en el estudio se le informará sobre cambios, riesgos, hallazgos, nuevas alternativas de tratamiento. En cada cita se le solicitará nuevamente su consentimiento para continuar participando en el estudio.

7. Participación o retiro.

La participación en este estudio es voluntaria, si al recibir la invitación usted decide no participar no se le obligará.

Si usted decide participar, pero en algún momento desea retirarse, lo podrá hacer sin que esto tenga repercusiones en la atención de los servicios que usted solicite.

8. Privacidad y confidencialidad

Toda la información que se obtenga de su participación, será manejada en forma confidencial. En ningún momento será revelado su nombre, dirección o teléfono a personas ajenas al estudio.

Los expedientes se archivan en muebles bajo llave, a los que únicamente tiene acceso el investigador responsable del estudio.

En caso que los resultados del estudio sean publicados o presentados en conferencias no se identificará a ninguno de los pacientes que hayan participado.

9. Abastecimiento de medicamento para otra enfermedad diferente a la del estudio

Si usted, además de la onicomiosis en las uñas de sus pies, padece de otra enfermedad podrá acudir con su médico familiar para que le otorgue su tratamiento.

10. Abastecimiento de medicamento para el tratamiento de onicomiosis en uñas de los pies

El tratamiento no está disponible en las farmacias, se le proporcionará de forma gratuita en el consultorio de investigación.

Durante el tiempo que se aplique el tratamiento nos comprometemos a expedirle la cantidad necesaria de medicamento.

11. Personal de contacto para dudas y aclaraciones

Si durante el tiempo que se este aplicando el medicamento surge alguna duda en relación al padecimiento o al tratamiento, usted puede acudir al consultorio de investigación con el médico tratante o llamar al teléfono 044 777 131 08 31 en horario de 8 a 14 horas de lunes a viernes. En caso que usted requiera atención fuera de este horario, podrá comunicarse con la Dra. Ofelia Romero responsable del proyecto al 044 777 175 33 26.

12. Personal de contacto para dudas sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación

Si usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del IMSS, a los teléfonos: 01 55 56276900-21216, de 9 a 16 hrs.; o al correo electrónico conise@cis.gob.mx. La Comisión de Ética se encuentra ubicada en el Edificio del Bloque B, Unidad de Congresos piso 4, Centro Médico Nacional XXI, Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores C.P. 06725, México D.F.

Declaro que se me ha explicado con claridad en que consiste el estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre del paciente

Firma del paciente

Fecha

Firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Creo que el/ella entiende la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre del encargado de obtener el consentimiento informado

Firma del investigador

Fecha

Firma de los testigos

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo

Fecha

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo

Fecha