



Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Biológicas -Programa de Magíster en Ciencias con mención en
Microbiología

**Actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Gunnera tinctoria*
(nalca).**



Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias mención Microbiología

SONJA HEBEL GERBER

CONCEPCIÓN-CHILE

2015

Profesor Guía: Dr. Edgar Pastene Navarrete

Dpto. de Farmacia, Facultad de Farmacia

Universidad de Concepción

RESUMEN

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa bacilar y espiralada, ureasa y catalasa positiva. Es un microorganismo patógeno con un 50% en promedio de prevalencia mundial, siendo mayor en los países que están subdesarrollados y en vías de desarrollo y afectando mayoritariamente a población con nivel socioeconómico bajo y que viven en condiciones de hacinamiento. En Chile la prevalencia es de un 73%.

H. pylori infecta al epitelio gástrico y su presencia está relacionada con patologías gástricas como gastritis, linfoma de MALT, úlcera péptica y cáncer gástrico, siendo la bacteria considerada como un carcinógeno definitivo de cáncer gástrico (tipo I) por la Organización Mundial de la Salud.

El patógeno logra infectar y permanecer en el epitelio gástrico gracias a sus factores de virulencia, los cuales incluyen la enzima ureasa, la cual neutraliza el pH ácido del estómago y su flagelo, el cual le permite movilizarse hasta su sitio de infección.

Hasta el momento no hay vacunas exitosas disponibles contra la bacteria y la terapia farmacológica tiene una tasa de fracaso del 20%, lo que ha generado resistencia antibiótica. Esta terapia es costosa y larga, durando en promedio entre 10 y 14 días y utilizándose entre 3 y 4 medicamentos al mismo tiempo, lo que muchas veces provoca el abandono de la terapia por los efectos adversos que genera.

Hay evidencia de que productos naturales logran afectar a la bacteria. Uno de ellos es *Gunnera tinctoria* (nalca), la cual se observó en los Laboratorios de Patogenicidad Bacteriana y Farmacognosia que tenían acción contra *H. pylori*, lo que motivó la realización de esta investigación, la cual tuvo como objetivos obtener un extracto total desde pecíolos de nalca y fraccionarlo en forma bio-dirigida en base a un *screening* de su actividad contra *H. pylori*, identificar las principales moléculas bio-activas presentes en el extracto total y fracciones de la planta, determinar la actividad del extracto total y de las fracciones de *G. tinctoria* sobre el crecimiento, ureasa,

movilidad y morfología de la bacteria, determinar si había una relación entre las moléculas identificadas en el extracto total y las fracciones de *G. tinctoria* y su efecto anti-*H. pylori* y establecer una relación entre la magnitud y el mecanismo mediante el cual extractos de nalca de elaboración propia afectaban de forma *in vitro* a *H. pylori*.

Para llevar a cabo esta tesis se trabajó con peciolo de nalca, desde donde se obtuvo un extracto total, el cual fue fraccionado. Se determinó si el extracto total y las fracciones de *G. tinctoria* tenían acción sobre las cepas ATCC45504 y J99 de *H. pylori* por medio de ensayos como ensayo de difusión en agar, Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en microdilución en caldo, Concentración Mínima Bactericida (CMB), curva de muerte, ensayo de la ureasa, ensayo de movilidad y microscopía electrónica de transmisión, todos ellos dirigidos a determinar si la planta estaba afectando el crecimiento *in vitro*, movilidad, ureasa o ultraestructura bacteriana. Para determinar que moléculas podrían estar generando los efectos antibacterianos es que se utilizó cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas.

Se determinó que el extracto total y las fracciones de nalca tienen una acción bactericida con la menor CMI y CMB de 32 µg/mL. Además en la curva de muerte la fracción 1 actúa más rápido que el antibiótico control. En el ensayo de ureasa se encontraron IC₅₀ bajas, siendo la menor de 13,5 µg/mL. En cuanto a la movilidad solo una de las cepas bacterianas se vio afectada por dos de las fracciones. Resultados mucho más favorables se obtuvieron con microscopía electrónica, donde se determinó que el extracto total y fracciones de nalca estarían interactuando con la membrana del patógeno, desestabilizándola y lisando y matando finalmente a la bacteria.

Los resultados encontrados en esta tesis indican que *G. tinctoria* ejerce un efecto anti-*H. pylori* y con estudios posteriores sobre líneas celulares, modelo animal y estudios clínicos, se podría pensar a largo plazo en comercializar los extractos de nalca.