

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



"Tephrosia (LEGUMINOSA) COMO TRATAMIENTO ANTIINFLAMATORIO ALTERNATIVO EN UN MODELO DE RATONES."

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A

MARÍA GUADALUPE VILLA GALLARDO

DIRECTOR: DR. FEDERICO GÓMEZ GARIBAY
ASESOR: M. C MAURILIO FLORES PIMENTEL.

MÉXICO, D.F.2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Mi más inmenso agradecimiento a Dios, primero por darme una familia la cual siempre me ha dado cariño, comprensión y apoyo incondicional, y un hombre y una hija maravillosos que llenan mi vida con su amor. En segundo lugar te doy gracias Señor por permitirme alcanzar una de mis metas.

A mi familia.

Papá, Mamá, Elena, José Luis, Antonio, Juan Manuel, Rita y familia, les doy las gracias por todos los consejos dados durante todo este tiempo, por guiarme con paciencia y cariño tanto en los momentos fáciles como en las dificultades.

A mi esposo e hija

Antonio este reconocimiento también es tuyo por todo el apoyo que siempre me has brindado y por darme la oportunidad de realizarme como esposa y madre, que esta sea una más de tantas metas que hemos de cumplir.

Sarita te doy las gracias por motivarme e impulsarme día con día con tu presencia, y sobre todo por darme la oportunidad de ser tu Mamá.

A mis amigos

Arturo Frías, Arturo González, Rocío, Apolinar, Daniel y Gisela les doy las gracias por hacer de esos momentos recuerdos amenos que quedarán guardados en mimemoría.

A mis profesores

Gracias al M.C. Maurilio Flores Pimentel, al Dr. Rubén Marroquín Segura por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo, al Dr. Federico Gómez Garibay por darme el tiempo necesario para concluir este escrito. Por su contribución con sus conocimientos y correcciones les doy gracias a mis sinodales QFB Ma de las Mercedes Zamudio Durán y a la M. en C. Ma Teresa Griselda Fuentes Lara.

INDICE

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	3
Características de proceso inflamatorio	3
Fármacos antiinflamatorios	12
Efectos secundarios y toxicidad de las drogas no esteroideas	15
Medicina alternativa	16
Distribución geográfica de <i>Tephrosia</i>	18
Compuestos aislados de <i>Tephrosia</i> mexicanas	19
Estudio químico de <i>Tephrosia crassifolia</i>	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
OBJETIVOS	24
HIPÓTESIS	25
MATERIAL	26
MÉTODO	27
DISEÑO ESTADÍSTICO	28
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	31
CONCLUSIONES	32
RECOMENDACIONES	33
REFERENCIAS	34

RESUMEN

Desde tiempos remotos el hombre ha empleado un sin número de remedios naturistas como tratamiento para diversas enfermedades. En México el uso de la herbolaria en la población es muy frecuente. En algunas comunidades se han empleado diversas leguminosas del género *Tephrosia* con diferentes actividades biológicas tales como piscicida, insecticida, espermaticida entre otras.

En el presente estudio se propone un tratamiento antiinflamatorio alternativo con el extracto de diclorometano de *Tephrosia madrensis* raíz y extracto hexánico *Teprosia madrensis* hojas (DTmR y MTmH respectivamente) y una sustancia pura llamada Crassifolina extraída de *Tephrosia crassifolia*, los cuales se administraron vía tópica en las orejas derechas de ratones CD1, mientras que en las orejas izquierdas solo se administró el agente causal de la inflamación (aceite de crotón) como testigo negativo. Al igual que las sustancias en prueba se administro indometacina como testigo positivo. Después de 6 horas se perforaron las orejas y se pesaron las muestras para posteriormente analizar estadísticamente los resultados obteniendo una inhibición de la inflamación de 46 y 38% para DTmR y MTmH respectivamente, mientras que para la Crasifolina y la Indometacina fue de 29 y 30% respectivamente; lo que indica que todas las sustancias estudiadas producen una inhibición de la inflamación significativa ($P < 0.05$).

INTRODUCCIÓN

La inflamación es una reacción defensiva contra toda lesión, que a su vez es consecuencia directa de la alteración celular y puede ser causada por traumatismo mecánico (contusión), radiación, lesión química directa, lesión secundaria química o bioquímica, organismos invasores y reacciones de tipo antígeno- anticuerpo. Las reacciones inflamatorias se dividen en dos tipos: agudas y crónicas y su clasificación depende del agente causal y del tiempo de duración, entre otros factores.

Los medicamentos antiinflamatorios empleados comúnmente son aquellos que no forman parte de los esteroides (tipo AINE), pero este tipo de medicamento puede causar reacciones adversas tales como la irritación de la mucosa gástrica hasta la ulceración de la misma o bien a un nivel de riñón, reacciones alérgicas, problemas hematológicos entre otros.

Por otra parte el tratamiento con plantas (medicina alternativa o herbolaria) desde tiempos remotos se ha empleado para el tratamiento de diferentes enfermedades por lo que durante los últimos años ha progresado la investigación farmacológica de esta rama; y en base en las investigaciones realizadas se ha obtenido información acerca de que la leguminosa *Tephrosia* tiene actividad antiinflamatoria. Razón por la que se valorará esta propiedad en el siguiente proyecto en un modelo de ratones.

MARCO TEÓRICO

CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO.

La inflamación es un proceso que ocurre luego del daño a un tejido. Puede describirse como una respuesta de irritación a la lesión. Se caracteriza por presentar movimiento de fluido, proteínas plasmáticas y leucocitos a los tejidos, todo esto en respuesta a la invasión microbiana o de antígenos.

La reacción inflamatoria es un mecanismo vital de defensa, que provee el medio por el cual factores protectivos tales como anticuerpos, complemento y células fagocíticas, que normalmente se encuentran confinadas en el torrente circulatorio, puedan penetrar en el tejido y ganar el acceso a los sitios de invasión por elementos extraños. Por lo tanto, la inflamación es considerada como un medio destinado a focalizar los mecanismos inmunológicos protectivos en una región localizada dentro del tejido.

El propósito de esta respuesta es contener o destruir el daño y retirar del tejido los desechos que resultaron de la respuesta inflamatoria.

La inflamación se caracteriza por la presencia de calor, rubor, edema, dolor y pérdida de la función celular. Todos estos signos ocurren como consecuencia directa del cambio en la permeabilidad vascular que permite el escape de electrólitos, macromoléculas y células desde los vasos sanguíneos al espacio extravascular.

En la inflamación los vasos sanguíneos se dilatan, razón por la cual se presenta calor y rubor en el área. El edema es producido por el escape de fluidos y células al tejido extravascular. El dolor y la pérdida de función que acompañan a la inflamación se deben a la función ejercida en las terminales nerviosas por la acumulación de líquido extravascular y a la liberación de mediadores químicos como prostaglandinas, leucotrienos, histamina entre otros.

La inflamación es un proceso complejo que involucra a numerosos mediadores de origen celular y plasmático con efectos biológicos interrelacionados.¹

El proceso inflamatorio se caracteriza por las siguientes fases sucesivas: 1) fase silenciosa, en la cual las células residentes del tejido dañado liberan los primeros mediadores inflamatorios, 2) fase vascular en la que hay vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular, 3) fase celular, que comienza cuando el sistema inmune se dispara y hay infiltración de leucocitos al tejido dañado, 4) fase de regulación ocurre cuando el fenómeno inflamatorio como en la mayor parte de las respuestas inmunológicas, integra una serie de mecanismos inhibidores tendientes a finalizar o equilibrar el proceso, y 5) fase de reparación, es en la que se determina la reparación parcial o total de los tejidos dañados.^{2,3}

PRIMERA FASE (Silenciosa).

Comienza con la reacción de las células residentes del tejido dañado. Entre estas células los mastocitos y los macrófagos juegan un papel determinante por la liberación de mediadores, tales como el óxido nítrico (ON), histamina, cininas, citocinas y prostaglandinas.

Esta primera parte se inicia con la liberación local de mediadores que aumentan el flujo sanguíneo de los capilares cercanos e inducen invasión de plasma al tejido (factores plasmáticos). Posteriormente, se produce activación del sistema de complemento y de coagulación. Asimismo, las células inflamatorias circulantes y las endoteliales liberan mediadores solubles de la inflamación y productos biológicamente activos. A continuación se describen estos mediadores.

1. Factores plasmáticos. El plasma contiene factores que aumentan la función de las células inflamatorias. Estos factores inician y propagan la inflamación por componentes del sistema del complemento, el sistema de coagulación (factores de contacto), las cininas y los componentes del sistema fibrinolítico.

1.1 El sistema del complemento es uno de los importantes mediadores de la inflamación. La activación del complemento produce péptidos que median la quimiotaxia, la anafilaxia, la vasodilatación y la secreción celular de citocinas. Los componentes C3b y C5a actúan como anafilotoxinas, causando degranulación de células mastoideas y de basófilos, liberando histamina y otros mediadores. De este proceso resulta la producción de vasodilatación, enrojecimiento, hinchazón y otros efectos que incluyen la contracción del músculo liso.

El componente C5a es un potente estímulo químico para la migración de neutrófilos, monocitos y eosinófilos al área de inflamación. Además, unido a la superficie de los neutrófilos estimula su adherencia, degranulación y estallido respiratorio. A la vez este componente induce la liberación del factor de necrosis tumoral (TNF), e interleucina-1 (IL-1), incrementando de esta manera la respuesta inflamatoria.

El C3b que proviene del clivaje de C3, cubre a las células blanco (opsonización). Las células fagocíticas poseen receptores específicos para C3b (CR3) y pueden unirse a las células opsonizadas preparando la ingestión. La fijación del componente C3b a las células blanco también incrementa la lisis por células asesinas (NK) a través de la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos.

El resultado de la interacción de estos factores es la habilidad de la activación local del complemento a inducir aumento del flujo sanguíneo al tejido afectado, quimiotaxismo, activación de fagocitos, neutrófilos y mononucleares, secreción de citocinas, amplificación del efecto del complemento y aumento de las defensas inmunológicas.

1.2 Sistema de activación por contacto. Existen una serie de proteínas que se activan por contacto con sustancias naturales, tales como cristales de urato de sodio, cristales de pirofosfato de calcio, sulfato de colesterol y homocisteína. Estas proteínas forman el llamado "sistema de contacto", el cual se encuentra compuesto con las siguientes proteínas: el factor XIIa (factor de Hageman activado), la pre-caliceína, el factor XI y el cininógeno de alto peso molecular.

El factor XIIa estimula la agregación y degranulación de los neutrófilos. La especie activa de la caliceína es quimiotáctica para los neutrófilos, mientras que el cininógeno de alto peso molecular se une a los neutrófilos en forma específica, reversible y saturable, lo que contribuye a la estimulación óptima de los neutrófilos por la caliceína.

1.3 Sistema de las cininas. La bradiginina se genera por el clivaje del cininógeno de alto peso molecular por acción de la caliceína. Esta cinina tiene un potente efecto sobre las células endoteliales, causando retracción de las mismas y permitiendo por lo tanto la migración de los neutrófilos y la exudación de los constituyentes del plasma.

1.4 Sistema fibrinolítico. Este sistema regula la deposición de fibrina en los vasos sanguíneos y en los tejidos. La fibrinólisis también comienza por un mecanismo dependiente de los neutrófilos, las proteasas liberadas de éstos degradan al fibrinógeno. Los neutrófilos unen específicamente fibrinógeno y fibrina y pueden estar involucrados en la disolución de las placas.

2. Mediadores lipídicos. Existen evidencias que sugieren que los signos cardinales de la inflamación (rubor, dolor, edema y calor) se producen, por lo menos en parte, por mediadores lipídicos tales como los eicosanoides y el factor activador de plaquetas (PAF), los cuales son sintetizados desde los fosfolípidos de las membranas de las células inflamatorias.

Los eicosanoides son productos oxigenados que derivan, en la mayoría de los casos, del ácido araquidónico, y son obtenidos por la acción de tres clases de enzimas intracelulares: la ciclo-oxigenasa (COX) que produce prostaglandinas y tromboxano A₂, las lipoxigenasas que generan leucotrienos, lipoxinas e hidroxiácidos, y la epoxigenasa que origina epoxiácidos.¹

2.1 Productos de la ciclooxigenasa. El producto principal de esta vía en las células cebadas del tejido conjuntivo es la prostaglandina D₂ (PGD₂)³.

La vía de las prostaglandinas y el tromboxano se inicia cuando la enzima ciclo-oxigenasa convierte el ácido araquidónico en endoperóxido cíclico (PGG₂) por introducción de oxígeno molecular. Esta etapa enzimática puede ser bloqueada irreversiblemente por aspirina y en forma reversible por compuestos antiinflamatorios no esteroideos tales como la indometacina¹.

El papel de la PGD_2 como mediador promueve dilatación vascular local y permeabilidad vascular (aunque en menor grado que la histamina), y también es un quimioatrayente para neutrófilos. Los basófilos no liberan productos de la ciclooxigenasa.

2.2 Productos de lipooxigenasa. Los cuatro productos principales de la vía de la lipooxigenasa son los leucotrienos LTB_4 , LTC_4 , LTD_4 y LTE_4 que son liberados por las células cebadas de las mucosas. Los LTC_4 , LTD_4 y LTE_4 son potentes agentes estimulantes de la contracción del músculo liso y los vasos sanguíneos constituyen colectivamente lo que se llama “sustancia de reacción lenta de anafilaxia”, ocasionan la reacción de roncha y rubor en la piel.⁴

El leucotrieno LTB_4 es un potente activador de la función y comportamiento de los leucocitos. Sus actividades biológicas principales residen en la producción de agregación de los leucocitos y estimulación de la función leucocitaria. Es el factor quimiotáctico más potente.¹

2.3 Factor activador de plaquetas (PAF). Es un mediador orgánico lipofílico que liberan las células cebadas y las plaquetas activadas, y también puede ser producido por otros tipos celulares activados. Además de activar las plaquetas tiene otros efectos proinflamatorios, incluyendo la propiedad de originar activación y degranulación de neutrófilos y eosinófilos. Es el quimioatrayente de eosinófilos más potente que se conoce.⁴

3. Oxido nítrico. El efecto fisiológico más importante del ON es su comportamiento como vasodilatador. Esta propiedad y su capacidad inductiva de la vía de las ciclooxigenasas lo hace un importante mediador del proceso inflamatorio.

4. Histamina. Es una amina natural producida por descarboxilación de la histidina, la cual se encuentra depositada en forma de gránulos en las células mastoideas y en los basófilos. Este mediador induce la clásica respuesta vascular de la inflamación aguda, incrementando el flujo sanguíneo, la permeabilidad vascular y produciendo edema, así como dolor y picazón. Aunque no posee efecto quimiotáctico puede ejercer quimiotactismo específico para eosinófilos y también facilitar el egreso de células de la serie blanca al espacio extravascular por incremento de la permeabilidad microvascular, sin embargo este efecto movilizador es poco relevante.

5. Las citocinas. Las citocinas son señales intercelulares no específicas, por las cuales, las células activadas pueden atraer otras células y en algunas situaciones, controlar procesos fisiológicos. Las citocinas comprometidas con el proceso inflamatorio son: factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina-1 (IL-1) e interleucina-6 (IL-6).

5.1 La interleucina-1 se origina en diversos tipos de células normales y transformadas, sin embargo la mayoría de esta citocina es producida por los macrófagos y los queratinocitos. Esta citocina lleva a cabo reacciones inflamatorias inmediatas que están caracterizadas por promover la reunión de los neutrófilos sanguíneos a las células endoteliales de la pared de los vasos sanguíneos seguida de infiltración y edema.

5.2. Factor de necrosis tumoral (TNF). Se considera uno de los más importantes mediadores de la inflamación y se produce en los macrófagos activados y otros tipos celulares.

SEGUNDA FASE (Vascular).

Después que las células mastoideas de los tejidos liberan los mediadores vasoactivos Tabla 1, estos inducen un episodio breve de vasoconstricción (3 a 5 segundos) seguido por dilatación de las arteriolas pre-capilares y aumento del flujo sanguíneo en la red vascular. La manifestación clínica de este proceso es el rubor.

Tabla 1. Mediadores vasoactivos¹

Mediador	Fuente
Vasoconstricción	
Neurogénicos	Nervios
LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄	Células mastoideas y basófilos
Vasodilatación	
PGI ₂	Células endoteliales
PGE ₂ , PGD ₂	Monocitos, macrófagos, células mastoideas
Histamina	Células mastoideas, basófilos
Serotonina	Plaquetas
Bradiquina	Plasma (sist. Celular de contacto)
ON	Células endoteliales
Aumento de permeabilidad vascular	
Histamina	Células mastoideas, basófilos
Serotonina	Plaquetas
C3a, C5a	Plasma (sistema de contacto)
Bradiquinina	Plasma (sistema de contacto)
LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄	Eosinófilos, células mastoideas, monocitos
PAF	Células mastoideas, basófilos, monocitos macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas, células mastoideas.

El aumento del flujo sanguíneo va acompañado del incremento de la permeabilidad en las venas pos-capilares, debido a la retracción de las células endoteliales y de formación de espacios en las uniones célula endotelial-célula endotelial. El aumento de la permeabilidad permite al fluido y a las proteínas salir del espacio intravascular y genera edema e hinchazón. Este proceso también ocasiona una concentración relativa de glóbulos rojos en la vasculatura con retardo del flujo sanguíneo en las venulas, lo cual facilita la marginación de los leucocitos y fomenta la adhesión de los mismos al endotelio.

TERCERA FASE (Celular).

La movilización de las células inflamatorias se encuentra comprendida en dos fenómenos fundamentales: leucocitosis y migración celular.

1 Leucocitosis

Los neutrófilos, eosinófilos y monocitos se producen en la médula ósea donde permanecen depositados por un corto período y luego son liberados al torrente circulatorio. Los macrófagos derivan fundamentalmente de los monocitos circulantes, pero poseen una habilidad limitada de presentar mitosis en los tejidos.

La vida media de los neutrófilos, eosinófilos y fagocitos mononucleares es relativamente corta. Por lo tanto para mantener su número en el sitio de inflamación se requiere un influjo constante de nuevas células.

El depósito de células marginadas representa una población de neutrófilos que se encuentran adheridos temporalmente a la pared de los vasos sanguíneos y que de esta manera permanecen fuera del torrente circulatorio principal. Esta marginación ocurre en los vasos donde la dinámica del flujo sanguíneo hace que los glóbulos rojos ocupen el torrente central, desplazando a los leucocitos a la periferia, en contacto con el endotelio de los vasos sanguíneos.

El depósito en médula ósea está constituido por células maduras o que se encuentran en las últimas etapas de maduración, las cuales están normalmente retenidas antes de ser liberadas al torrente circulatorio. En respuesta a mediadores inflamatorios tales como la IL-1, el TNF y la endotoxina estas células son liberadas al torrente circulatorio, haciéndose evidente la reacción inflamatoria por el número de neutrófilos en cayado que se encuentran en el mismo.¹

2 Migración celular

La migración de los leucocitos a los tejidos involucra una secuencia coordinada de fenómenos de adherencia, mediados por la interacción entre los leucocitos y las moléculas de adhesión de la superficie de las células del endotelio vascular. Esta cascada de fenómenos se divide en cuatro etapas:

2.1 La primera etapa involucra la generación de mediadores (incluyendo citocinas) y la activación inicial del endotelio en el sitio de inflamación para inducir la expresión de selectinas y ligandos de selectinas. Esto ocasiona un debilitamiento del contacto entre los leucocitos y el endotelio vascular, produciendo de esta forma “rodamiento” de los leucocitos a lo largo del endotelio.

2.2 En la segunda etapa de la cascada, la de “activación”, los leucocitos que se encuentran rodando son activados por citocinas, quimiocinas y quimioatrayentes, que son producidos localmente. La activación de los leucocitos ocasiona entonces un aumento de afinidad de la unión de las integrinas de los leucocitos a sus ligandos endoteliales, llevando a una adhesión firme.

2.3 La tercera etapa es de “adhesión firme” mediada por la unión de una integrina del leucocito a un ligando tipo inmunoglobulina (Ig).

2.4 En la última etapa, la “migración trans-endotelial” los leucocitos adheridos migran entre las uniones de las células endoteliales. Esta etapa involucra a integrinas leucocitarias y ligandos endoteliales tipo Ig, así como a moléculas de adhesión de leucocitos y plaquetas del endotelio vascular.¹

CUARTA FASE (Regulación del proceso inflamatorio).

Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio se encuentra estrechamente regulado, evitando, así una respuesta exagerada o perjudicial. Algunos de los mediadores que producen activación, al variar su concentración o actuar sobre distintos receptores, van a producir inhibición, consiguiendo, de esta forma, un equilibrio o modulación de la respuesta inflamatoria. Los siguientes factores intervienen en esta regulación.^{5,6,7}

1. Histamina. Actuando sobre receptores H₂, induce en el mastocito y basófilo una inhibición de la liberación de mediadores, al mismo tiempo inhibe la actividad del neutrófilo, la quimiotaxis y activa las células T supresoras.³

2. PGE₂. Produce en el mastocito y basófilo una inhibición de la liberación de mediadores y sobre los linfocitos una inhibición de la proliferación, diferenciación, mientras que en la producción de citocinas por células y macrófagos tiene el mismo efecto; así mismo calma el entusiasmo citotóxico de los macrófagos y las células NK activadas.⁴

3. Heparina. Inhibe la coagulación y la activación de los factores del complemento.

4. Eosinófilo. Esta célula es atraída al foco inflamatorio donde libera una serie de enzimas que degradan determinados mediadores potenciadores de la inflamación. Una vez eliminado el agente inflamatorio, estos procesos reguladores, normalizan el sitio dañado.⁴

QUINTA FASE (Reparación o resolución).

El resultado final óptimo de una reacción inflamatoria aguda es la restitución completa de la estructura y función normal del tejido lesionado, proceso al que se le denomina resolución. Este requiere: 1) remoción del exudado inflamatorio, fibrina y desechos celulares; 2) inversión de los cambios en la microvasculatura, y 3) reemplazo de todas las células especializadas perdidas a causa de la lesión. Este resultado sólo se obtiene si el agente lesivo se elimina. Además, aunque algunos tejidos tienen una notable capacidad de regeneración, por lo general la resolución verdadera sólo ocurre donde ha habido una mínima necrosis de células especializadas o daño a la matriz circundante.

Cuando el agente lesivo ha sido superado, la liberación de mediadores químicos se reduce y en consecuencia, el estímulo para la vasodilatación, el incremento de la permeabilidad vascular y el reclutamiento celular. Conforme cesa la vasodilatación, el equilibrio de las fuerzas hidrostática y osmótica a través de la pared de los vasos sanguíneos pequeños regresa a su estado de reposo normal y parte del exudado inflamatorio se resorbe en el extremo venular de los capilares. Sin embargo, la mayor parte del líquido y toda la proteína del exudado se eliminan a través de los linfáticos.

El drenaje linfático del área de inflamación aumenta tanto en volumen como en contenido de proteínas, y se desarrollan cambios reactivos en el ganglio linfático al que drena. La mayor parte de los neutrófilos infiltrados mueren en el lugar, pero algunos salen por los linfáticos. La liberación de metabolitos reactivos con oxígeno y enzimas de neutrófilos durante la fagocitosis produce daño tisular adicional y la liberación de enzimas después de su muerte contribuye a su propia digestión. En forma similar, las células del tejido muerto son digeridas parcialmente por sus propias enzimas lisosomales así como las liberadas por los neutrófilos y macrófagos.

Conforme desaparecen los neutrófilos, estos son reemplazados por los monocitos y los macrófagos para formar una proporción cada vez mayor de células en el tejido inflamado, para que al final reemplacen a todos los neutrófilos y sean activamente fagocíticos, los cuales identifican y degradan gran parte de los desechos celulares y tejidos destruidos en las lesiones inflamatorias. A menudo esto se denomina fase de demolición de la inflamación.

La mayor parte de la fibrina depositada en los espacios extravasculares se metaboliza por las enzimas fibrinolíticas del exudado y los productos de degradación de la fibrina soluble son eliminados por los linfáticos. Los macrófagos engloban una cantidad relativamente pequeña de fibrina. La plasmina es el principal compuesto causante de la actividad fibrinolítica del exudado inflamatorio.⁸

Inflamación crónica.

Si un agente inflamatorio persiste, ya sea por su resistencia a la degradación metabólica o por la incapacidad de un sistema inmune deficiente de eliminar un microorganismo infeccioso, el carácter de la respuesta celular se modifica⁴.

La inflamación crónica se caracteriza por el aumento en el número de macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. En este punto puede haber distintas posibilidades:

Primero, La eliminación del elemento patógeno y el tejido dañado puede aparecer comenzando a repararse y retornar a su estructura y función normal.

Segundo, Se puede presentar persistencia del agente patógeno, con o sin activación del mecanismo inmunológico, llevando al desarrollo de la inflamación granulomatosa.

Tercero. En esta etapa puede haber daño irreversible del tejido, seguida de una activa proliferación de capilares, fibroblastos y elementos mesenquimatosos que llevaría a la pérdida de la función del tejido. La evolución de la respuesta inflamatoria depende de la naturaleza de la agresión, de la extensión de la lesión y del grado de activación inmunológica que presenta.

La fase inflamatoria aguda tiene una extensión limitada de 5-12 horas, la que luego puede ser seguida por la fase crónica.

Siguiendo a la respuesta inmediata aguda, existe un influjo, subsecuente de monocitos, eosinófilos y linfocitos. En la medida en que la agresión inicial es controlada o contenida no se produce más reclutamiento de neutrófilos, los neutrófilos presentes degradan y se acumulan las células mononucleares. En el momento en que en el sitio de inflamación predominan los monocitos, linfocitos, macrófagos y células plasmáticas comienza la inflamación crónica.

La función que cumplen los monocitos y los macrófagos es doble: por un lado, la de fagocitar, ingerir o degradar microbios, desechos celulares y neutrófilos degenerados y, por el otro lado, la de modular la respuesta inmune y la función de las células T a través de la presentación del antígeno y secreción de citocinas específicas. Posteriormente, los monocitos y los macrófagos tienen la función de modular la etapa de cicatrización y reparación secundaria a la secreción de citocinas que afectan a las células parenquimales y a la función de las células inflamatorias. Mientras el proceso inflamatorio transita la fase crónica, los monocitos y los macrófagos continúan fagocitando desechos celulares y materiales que no ha sido adecuadamente removido por los neutrófilos.

Dependiendo de la extensión de la lesión, el tejido dañado puede retornar a la estructura y función normal o transitar hacia la reparación activa con fibrosis llegando a una estructura y función alterada.¹

FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS.

Las dos clases más importantes de agentes farmacológicos que inhiben la respuesta inflamatoria aguda o crónica son: 1) los fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE, típicamente los derivados de los ácidos orgánicos enólico y carboxílico), cuyo prototipo es la aspirina, y 2) las hormonas glucocorticoideas suprarrenales (antiinflamatorios esteroides, AIE), cuyo prototipo es la hidrocortisona (cortisol).⁹

Fármacos antiinflamatorios no esteroides.

Los AINE pueden subdividirse aún más en inhibidores de la prostaglandina sintetasa (IPS) o no inhibidores de la prostaglandina sintetasa (no-IPS)¹⁰. Por convención, el termino genérico AINE se refiere a los inhibidores de la prostaglandina sintetasa específicos, aunque, existen muchos compuestos antiinflamatorios importantes que son AINE, pero que no actúan por medio de la inhibición de la PG sintetasa. tabla 2.

Tabla 2. Principales clases de fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE).

Inhibidores de la prostaglandina Sintetasa (IPS)		No inhibidores de la prostaglandina sintetasa (no-IPS)		
Derivados del Ácido carboxílico	Derivados del Ácido enólico	Para-aminofenoles	Agentes antiartritis reumatoidea	Agentes antigotosos
Ácido salicílico	Oxicanos	Fenacetina	Oro	Colchicina
Ácido acético	pirazonas	Acetaminofeno	Inmunosupresores	Alopurinol
Ácido propiónico			Penicilamina	uricosuricos
Ácido fenámico			Levamisol	
			Antipaludicos: Cloroquina hidroxicloroquina	

Propiedades farmacológicas de las principales clases de IPS.

Se ha planteado la hipótesis de que el principal mecanismo por medio del cual los IPS ejercen sus efectos terapéuticos y tóxicos es mediante su capacidad para inhibir la síntesis de las PG. Estos fármacos bloquean la vía de la ciclooxigenasa, inhibiendo de forma no selectiva la síntesis de las PG por tanto los efectos antiinflamatorios de estos fármacos en general se relacionan con la inhibición de la síntesis de la PG y los tromboxanos. Los datos experimentales hasta el momento no avalan un efecto específico sobre la vía de la lipooxigenasa.

La segunda propiedad compartida por los IPS es su relación química de ser ácidos débiles.

Dado que el ácido acetilsalicílico (aspirina) ha sido utilizado en forma empírica durante años por sus propiedades analgésicas y antipiréticas, precediendo a todos los agentes antiinflamatorios excepto a la quinina, es el prototipo con el cual se comparan todos los otros AINE. Cabe recalcar que todos los agentes antiinflamatorios proporcionan solo el alivio sintomático de los trastornos inflamatorios crónicos tales como la artritis reumatoidea. No alteran el curso crónico de la enfermedad, incluyendo la formación de pannus con destrucción ósea, la deformación articular y la pérdida de la función.⁹

Indometacina.

1. Antecedentes históricos. La indometacina fue introducida en 1965 como parte de la búsqueda de agentes antiinflamatorios similar aspirina más potentes. Tiene interés histórico el hecho de que la investigación y el desarrollo de la indometacina que llevaron a su disponibilidad clínica ocurrieran de forma concomitante e independiente del aislamiento y la identificación de las PGE y las PGF a partir de las vesículas seminales por parte de Bergstrom y col. (1962 y 1963); al mismo tiempo se produjo el descubrimiento independiente de la actividad vasodilatadora sostenida en la médula renal por parte de Lee y col. (1962 y 1963) quienes aislaron e identificaron los lípidos responsables como las prostaglandinas PGA_2 , PGE_2 y $PGF_{2\alpha}$. Así, si bien tanto la aspirina como la indometacina fueron utilizados de forma clínica en la década de 1960 por sus propiedades antiinflamatorias, su mecanismo de acción y sus efectos colaterales renales y extrarrenales continuaron siendo totalmente desconocidos hasta que Smith y Willis y Ferreira y col., demostraron en 1971 que eran potentes inhibidores de la PG sintetasa.

2. Química, metabolismo y excreción. La indometacina es un derivado metilado del indol, que es insoluble en agua, su absorción es de forma eficiente y rápida en el tracto gastrointestinal (tracto GI), incluyendo la mucosa rectal cuando se administra en supositorios. Una vez en sangre se une casi totalmente a las proteínas plasmáticas y llega a una concentración plasmática pico de $1\mu\text{g/ml}$ 2 horas después de la ingesta de una cápsula de 25mg.

La indometacina tiene una circulación enterohepática que sigue una farmacocinética lineal con una vida media plasmática de 4 a 5 horas en promedio, si bien se han informado lapsos variables de 12 a 13 horas se metaboliza por las enzimas microsomales hepáticas a los metabolitos desmetilo y desbenzoilo libres conjugados. Es excretada en la orina (60%) y en la bilis (30% en las heces) como compuesto padre y metabolitos.

3. Acciones farmacológicas e indicaciones terapéuticas. La indometacina presenta todas las acciones antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas clásicas de la aspirina, pero es 20 a 30 veces más potente, comparable en este aspecto con la

fenilbultazona. Sin embargo, es importante hacer notar que no todos los efectos de la indometacina pueden ser atribuidos a la inhibición de la síntesis de las PG. Así, la indometacina reduce la producción de renina por parte de las células yuxtaglomerulares de la corteza renal, lo cual puede dar como resultado importantes efectos sobre la presión arterial, el agua y la sal, independientes de las prostaglandinas. Asimismo, puede afectar las funciones del monofostato de adenosina (AMP) cíclico en virtud de su efecto inhibitorio sobre la fosfodiesterasa.

Las indicaciones clínicas de la indometacina incluyen el alivio de los síntomas de la osteoartritis, la espondilitis anquilosante y la artritis reumatoidea, incluyendo el alivio de las exacerbaciones agudas con reducción de la tumefacción y la sensibilidad articulares. Este fármaco es sumamente útil en el tratamiento de la artritis gotosa aguda, las bursitis agudas y las tendinitis agudas.

Las contraindicaciones absolutas de la indometacina incluyen el embarazo, en especial durante el último trimestre, cuando puede producirse el cierre prematuro del conducto arterioso inducido por la indometacina; las reacciones de hipersensibilidad; las anomalías hemorrágicas, y cuando puede haber predisposición a la precipitación de los efectos colaterales severos de la indometacina. La indometacina no sólo es uno de los IPS más potentes, sino que además sus efectos colaterales son marcados, si bien estos efectos pueden atribuirse en gran medida a la inhibición de la síntesis de las PG, algunas reacciones parecen ser independientes de esta inhibición.⁹

Dos de los efectos más comunes y molestos son la somnolencia y (paradójicamente) la cefalea, que pueden aparecer en más de la mitad de los pacientes tratados con indometacina. Los efectos colaterales adicionales predominantes (y más severos) incluyen los referidos al tracto GI (dispepsia, náuseas y vómitos, dolor abdominal, flatulencias, diarrea y úlcera péptica) y a los riñones (nefritis intersticial, necrosis papilar e insuficiencia renal aguda).

4. Presentaciones y dosis. La indometacina se presenta en cápsulas de 25 y 50mg, cápsulas de liberación sostenida (SR) de 75mg y una suspensión (25mg/5ml), todas para uso oral. Este fármaco también se presenta en supositorios de 50mg y en un preparado para uso IV (1mg de indometacina/frasco-ampolla que se reconstituye con 1 a 2 ml de solución salina o agua destilada).

La dosis inicial en general es de 25mg por vía oral tres veces al día con incrementos de 25 a 50 a intervalos semanales hasta una dosis diaria máxima de 150 a 200mg, según indique la respuesta terapéutica o la aparición de efectos colaterales.

El régimen con las cápsulas de 25 a 50mg tres veces al día puede reemplazarse por la administración de las cápsulas de liberación sostenida de 75mg una o dos veces al día. Debe minimizarse el uso de supositorios de indometacina para evitar la irritación y las hemorragias rectales.⁹

EFFECTOS SECUNDARIOS Y TOXICIDAD DE LOS FARMACOS NO ESTEROIDEOS.

Los antiinflamatorios no esteroides son los fármacos más comúnmente empleados en la práctica médica para el tratamiento de enfermedades reumáticas o degenerativas de las articulaciones y en el alivio del dolor e inflamación muscular y osteoarticular post-traumático.^{12,9}

Efectos secundarios de los AINE a nivel gastrointestinal.

El efecto secundario y más usual de este tipo de fármacos es la irritación de la mucosa gástrica, con hemorragia. Los AINE producen toxicidad gastrointestinal tanto por la acción directa del medicamento sobre la mucosa como por su efecto sistémico, es por eso que los preparados parenterales no están libres de efectos colaterales.^{13,14}

Para entender el efecto secundario es preciso recordar el mecanismo de acción de los AINE, el cual es debido a su acción inhibitoria sobre la enzima ciclo-oxigenasa, esta enzima convierte el ácido araquidónico en prostaglandina, que es un potente pro-inflamatorio. El problema está en que también inhiben la producción de prostaglandinas E₁, E₂, I₂ y F₂, a nivel gastrointestinal incrementan la producción de bicarbonato, preserva la microvasculatura de la mucosa e incrementa su regeneración. Estas prostaglandinas, que tienen una función fisiológica de protección sobre el tracto gastrointestinal, son inhibidas por los AINE tradicionales.^{15,12}

Recientemente se ha descrito que no existe una sola ciclo-oxigenasa sino dos: la COX₁ y la COX₂¹⁶ La COX₁ está involucrada en la producción de prostaglandinas, que tienen un efecto fisiológico en la mucosa gástrica, riñón y endotelio, mientras que la COX₂ lo está en las prostaglandinas encargadas del proceso inflamatorio ya que se expresa en el sitio de la lesión.

Efectos tóxicos a nivel no gastrointestinal.

Renal. Las prostaglandinas ejercen efecto vasodilatador a nivel del riñón, la inhibición de éstas produce disminución en el flujo renal y la filtración glomerular. El uso de AINE está asociado a toxicidad renal, los efectos más comunes son moderados y reversibles, sin embargo las complicaciones relativamente raras de nefritis intersticial y necrosis papilar son por lo general irreversibles.^{17,18}

Reacciones alérgicas. Las reacciones alérgicas debidas a AINE son más frecuentes de lo que comúnmente se cree. En una revisión de 266 casos de anafilaxia, Kemp y cols. encontraron que el 20% fueron causados por medicamentos, y de este porcentaje más de la mitad correspondió a AINE, superando inclusive a los antibióticos β-lactámicos.¹⁹

Hematológicos. Todos los AINE inhiben la agregación plaquetaria aumentando el tiempo de sangrado. El uso de éstos debe efectuarse con precaución en pacientes con alteraciones hematológicas y en el caso de la aspirina ser suspendido una semana antes de un procedimiento quirúrgico.²⁰

Otros efectos adversos. El uso de AINE puede elevar transitoriamente las enzimas hepáticas; también se han observado casos de hepatotoxicidad asociados a su uso.^{20,21} En pacientes sensibles se han observado casos severos de asma desencadenados por el uso de AINE. En el área dermatológica ha descrito reacciones como exantema y prurito. Algunos reportes muestran que la presión arterial puede aumentar con el uso de AINE, sin embargo por la poca magnitud de este aumento (sólo 5mmHg), no parece estar implicado en mayor riesgo de enfermedad cardiovascular.²²

Tampoco es rara la dispepsia por irritación. Con dosis pequeñas y poco frecuentes la pérdida de sangre no suele tener gran importancia aunque puede ser tan intensa que origine hematemesis (vómito de sangre) o melena (heces negras por los compuestos de hierro derivados de la desintegración de la hemoglobina).¹³

Debido a que en algunos casos se producen efectos secundarios con el uso de la terapia convencional, algunos sectores de la población recurren a la medicina alternativa (herbolaria).

MEDICINA ALTERNATIVA

Desde tiempo inmemorial el hombre ha recurrido a las plantas en busca de curación para sus males y alivio a sus dolores. Esa búsqueda lo ha hecho profundizar en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar su experiencia en el empleo de productos que de ellas se extraen.^{23,24}

La flora en México es sin duda una de las principales riquezas y conocerla, es un reto para los científicos y botánicos del país.

Dentro de esta diversidad vegetal existen varios centenares de plantas con acción biológica probada y se definen como aquellos vegetales que elaboran sustancias que ejercen una acción farmacológica o perjudicial para el organismo vivo.^{25,26}

Son varios los usos que con frecuencia se le atribuyen a la gran diversidad de la plantas existentes en México, tal es el caso de las leguminosas.

Las leguminosas integran una de las familias de plantas más diversificadas en la naturaleza. Esta familia de plantas se encuentra constituida por 1200 a 1700 especies, las cuales se encuentran clasificadas según sus características morfológicas en 590 a 690 géneros y en 3 subfamilias elevadas a la categoría de familia: Caepinoideae, Mimosoideae y Papilinoideae.

En la familia Papilinoideae se encuentran los géneros *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* y *Mundulea* los cuales están relacionados porque de sus raíces se han aislado, entre otros compuestos, un variado y gran número de flavonoides y rotenoides. De estos últimos algunos han demostrado ser tóxicos para una amplia variedad de insectos y peces, pero poco tóxicos cuando son ingeridos por animales o por el hombre.

Por otra parte la importancia económica de, *Tephrosia* (fig.1.) es reconocida ampliamente desde hace mucho tiempo. Un número considerable de especies de este género fue descrito en décadas pasadas en diversas partes del mundo con diversos usos.

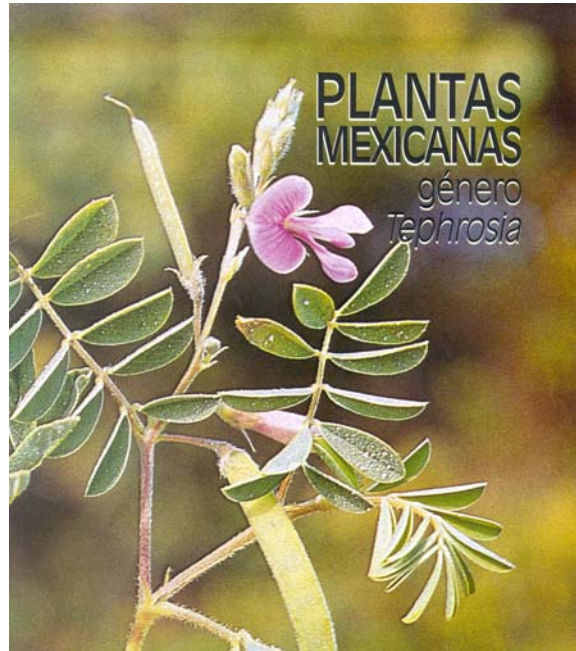


fig.1. Leguminosa del género *tephrosia*.²⁷

Desde 1756 la *T. Sinapou* se utilizaba para la pesca primitiva en Jamaica, por medio de la intoxicación de los peces arrojando las hojas de las plantas en los ríos, lagos y charcos.

También se ha reportado el uso de un número considerable de *Tephrosia* en diversas partes del mundo y para diferentes fines. Entre los más importantes se encuentran las propiedades medicinales que se atribuyen a la *T. multifolia* y *T. cinerea*, que son empleadas en la zona del Caribe como febrífugos, purgantes, contra afecciones nerviosas, cutáneas y venéreas; *T. tenella* y *T. purpurea* son usadas en América y Asia contra la elefantiasis, erupciones de la piel, afecciones renales y hepáticas, la indigestión y la tos.²⁷

En México los tarahumaras empleaban la *T. leicarpa* como insecticida para matar los piojos y pulgas de sus animales y ellos mismos. Así como también utilizaban la *T. nicaragûensis* para la pesca primitiva y la producción de fina tinta azul.

Tiempo atrás algunas especies de éste y otros géneros, como *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia*, etc., fueron explotados industrialmente para la obtención de rotenoides y compuestos relacionados para la fabricación de insecticidas no tóxicos para mamíferos.

Recientemente algunas especies mexicanas de *Tephrosia* fueron analizadas químicamente reportando la presencia de rotenoides y flavonoides relacionados en: *T. multifolia*, *T. abbotiae*, *T. pringlei*, *T. nitens*, *T. watsoniana* y *T. sinapou*, que ubican al género como fuente potencial para la obtención industrial de insecticidas.

Así mismo uno de los principales metabolitos secundarios encontrados en los estudios fitoquímicos del género *Tephrosia* son los rotenoides, donde el principal componente es la rotenona, de la cual todos los demás miembros toman su nombre. Algunos de estos se caracterizan por su actividad insecticida y piscicida, además de ser compuestos biodegradables y poco tóxicos cuando son ingeridos por animales superiores, incluyendo al hombre.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE TEPHROSIA

En el ámbito mundial este género comprende más de 400 especies en todos los Continentes, con excepción de Europa, que no cuenta con ninguna especie.

En la República Mexicana el género *Tephrosia* se encuentra ampliamente distribuido en regiones tropicales; se localiza generalmente sobre las costas del Océano Pacífico, desde el estado de Baja California Sur, pasando por los estados de Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Guerrero, Oaxaca, parte de Chiapas, así como Nuevo León

Son hierbas que pueden encontrarse desde 0 hasta 2 700 metros de altitud, aunque son más abundantes entre los 300 y hasta los 1 500 metros de altitud.

En México se encuentran aproximadamente 50 especies, ubicadas principalmente en las costas del Pacífico y del Golfo de México. Tabla 3

Tabla3. Especies del género *Tephrosia* existentes en la República Mexicana.

<i>T. abbotiae</i>	<i>T. lanata</i>	<i>T. senna</i>	<i>T. nitens</i>
<i>T. adunca</i>	<i>T. lanata gigantea</i>	<i>T. sessiliflora</i>	<i>T. pachypoda</i>
<i>T. belizensis</i>	<i>T. langlassei</i>	<i>T. simulans</i>	<i>T. palmeri</i>
<i>T. cana</i>	<i>T. leiocarpa</i>	<i>T. sinapu</i>	<i>T. paucifoliolata</i>
<i>T. carrollii</i>	<i>T. leucantha</i>	<i>T. sousae</i>	<i>T. platyphylla</i>
<i>T. cinerea</i>	<i>T. lindheimeri</i>	<i>T. submontana</i>	<i>T. pogonocalyx</i>
<i>T. conzattii</i>	<i>T. linearibracheolata</i>	<i>T. tenella</i>	<i>T. potosina</i>
<i>T. crassifolia</i>	<i>T. macrantha</i>	<i>T. tepicana</i>	<i>T. pringlei</i>
<i>T. cuernavacana</i>	<i>T. madrensis</i>	<i>T. tuitoensis</i>	<i>T. quercetorum</i>
<i>T. diversifolia</i>	<i>T. major</i>	<i>T. thurberi</i>	<i>T. rhodantha</i>
<i>T. foliolosa</i>	<i>T. mexicana</i>	<i>T. vernicosa</i>	<i>T. saxicola</i>
<i>T. guayameoensis</i>	<i>T. microcarpa</i>	<i>T. vicioides</i>	<i>T. seemannii</i>
<i>T. hypoleuca</i>	<i>T. multifolia</i>	<i>T. viridiflora</i>	
<i>T. watsoniana</i>	<i>T. nicaraquensis</i>	<i>T. vogelii</i>	

COMPUESTOS AISLADOS DE TEPHROSIA MEXICANAS

Hasta el momento son más de 40 las especies mexicanas estudiadas desde el punto de vista químico. El estudio fitoquímico del género *Tephrosia* demuestra la presencia de numerosos compuestos entre los cuales se encuentran, principalmente, flavonoides y rotenoides, así como pterocarpanos, esteroides y triterpenos.

Generalidades sobre los flavonoides

Los flavonoides constituyen uno de los grupos más grandes de metabolitos secundarios. Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, principalmente en forma de glicósidos. La gran mayoría son pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores y algunos frutos y del sabor de muchos alimentos y bebidas como el té y el vino.

Son compuestos fenólicos que presentan estructuras químicas íntimamente relacionadas, basadas en un esqueleto de 15 átomos de carbono distribuidos en una relación (C₆-C₃-C₆)¹⁰. Los flavonoides se biosintetizan a través de una ruta mixta, la ruta del ácido shikimico y la del acetato-malonato. El intermediario común para todos los flavonoides es la chalcona. Su formación ocurre por la condensación de *p*-hidroxicinamoil-CoA (C₆-C₃) con tres unidades de malonil-CoA (C₆), y a partir de éste derivan los diferentes tipos de flavonoides que existen.

La función fisiológica de los flavonoides en los vegetales, como ocurre para muchos metabolitos secundarios, no es bien conocida. Algunas hipótesis indican que son antioxidantes (por quelación de los metales), otros son inhibidores enzimáticos o bien protegen contra radiaciones nocivas.

La función ecológica de estos pigmentos es más evidente ya que son responsables del color de muchas flores; por lo tanto, son “guías del néctar” para los insectos. De esta manera atraen y guían a los polinizadores, favoreciendo así la reproducción de las especies.

Propiedades biológicas de los flavonoides

Las propiedades biológicas de los flavonoides varían, en particular las de los flavonoides tricíclicos, puesto que estos presentan efectos biológicos tales como: anticancerígeno, espermaticida, antiviral, estrogénico, bactericida, edulcorante, fungistático, etc.

Además, un mismo flavonoide puede presentar diferentes actividades de un compuesto a otro. Hasta el momento es imposible determinar con exactitud la relación entre la estructura y la actividad, aunque ya se han establecido algunas generalidades.²⁷

Los flavonoides también se caracterizan por sus propiedades antiinflamatorias^{28,29} y otras no menos importantes como lo son las antioxidantes, las antihistaminicas,

antivirales y anticancerosas,³⁰ sin olvidar la acción antiespasmódica que poseen algunos flavonoides, como la apigenina (también antiinflamatoria), contenida en las flores de manzanilla, muy comercializada en el mundo.^{31,32}

Absorción y metabolismo de los flavonoides

El destino de los flavonoides en el cuerpo después de la ingestión está determinado por su absorción, distribución, metabolismo y eliminación, de los cuales cada uno tiene su propia velocidad y extensión.

Absorción. Estudios realizados sobre la absorción de los flavonoides demostraron que la capacidad de absorción del colón es mucho menor que la del intestino delgado. Además también se observó que los flavonoides glicosidados se absorben bien en humanos sin previa hidrólisis por los microorganismos de la flora intestinal, y que los flavonoides glicosidados presentes en alimentos son mejor absorbidos que las gliconas puras.

Metabolismo. Los principales sitios del metabolismo de los flavonoides son el hígado y la flora intestinal, aunque también otros tejidos como el riñón y la pared intestinal también pueden participar.²⁷

Potencial antiinflamatorio de los flavonoides

El mecanismo de acción del efecto antiinflamatorio de los flavonoides radica en la disminución de la formación de mediadores pro-inflamatorios como prostaglandinas, leucotrienos y óxido nítrico, así lo muestran los estudios de *Narizawai*.³³

En los últimos años se han realizado diferentes estudios para determinar este potencial antiinflamatorio de los flavonoides en los que se ha observado que muchos pueden modular la síntesis de prostaglandinas, funcionando como inhibidores enzimáticos. Existen aquellos que pueden inhibir la enzima ciclooxigenasa, como por ejemplo la flavonona, la hesperetina, la flavona y la galangina, mientras que otros pueden inhibir la enzima lipooxigenasa, como la fisetina, la quercetina, la remnetina y la mirecetina.

De una u otra manera todos los flavonoides mencionados muestran actividad antiinflamatoria. Es importante mencionar la gran ventaja de los flavonoides sobre los fármacos antiinflamatorios clásicos, ya que carecen de efectos secundarios tóxicos asociados con el uso de fármacos sintéticos; es decir, no causan ulceración gástrica.²⁷

Dentro de las especies del género *Tephrosia* últimamente estudiadas se han encontrado diversos efectos farmacológicos entre los que resaltan el antiviral contra el virus del dengue³⁴ y el antiinflamatorio.

ESTUDIO QUÍMICO DE *TEPRHOSIA CRASSIFOLIA*

Material vegetal. El material vegetal utilizado fue recolectado desde hojas, tallos y raíz de *Tephrosia crassifolia* en el Municipio de Compostela en el Estado de Nayarit, en enero de 1995.

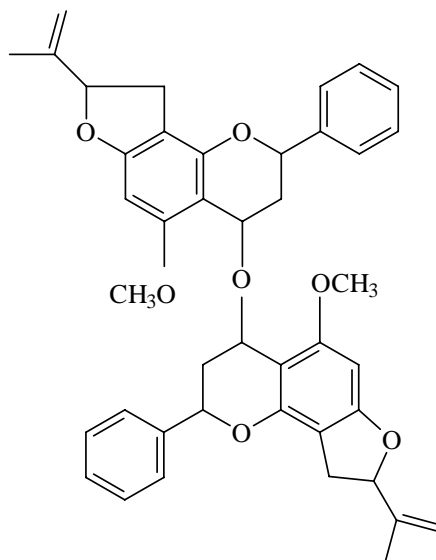
Extracción. El material vegetal seco y molido se extrajo mediante un proceso de maceración con diferentes disolventes en orden de polaridad ascendente, a temperatura ambiente durante 24 horas con cada uno. Se obtuvieron las siguientes sustancias puras después de evaporar el disolvente por destilación a presión reducida:

- A. Crassifolina
- B. Hildgartol A
- C. Tephromicrocarpanona
- D. Metil Glabranina
- E. Metil Hildgartol

Caracterización. Los compuestos aislados se caracterizaron basándose en sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación en ccf en algunos casos con muestras auténticas.

La Crassifolina es un sólido cristalino de color blanco en forma de pequeños agujas, insoluble en hexano, acetona, metanol, soluble en diclorometano, éter y benceno. Con punto de fusión de 249-250°C.³⁵

La Crassifolina tiene la siguiente fórmula química.



Al concluir el análisis químico de la Crassifolina se encontraron características de un biflavonoide entre cuyas características anteriormente probadas se encuentra la de antiinflamatorio.³⁵

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La inflamación es una reacción defensiva contra toda lesión, que se desencadena a consecuencia del daño celular resultante. Para los casos en los que el daño es severo o bien en los que la inflamación está ocasionando alguna alteración el tratamiento de elección son los antiinflamatorios no esteroideos, que en la mayoría de la población causan irritación de la mucosa gástrica.

En nuestro país el interés por el uso de la medicina alternativa ha crecido, ya que una parte de la población usa sólo plantas medicinales por no tener acceso a la medicina institucional o bien por no sufrir los efectos tóxicos que ésta origina. Con base en lo anterior el presente trabajo pretende evaluar como tratamiento alternativo para la inflamación el uso de las sustancias extraídas a partir de plantas del género *Tephrosia*.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antiinflamatorio de las sustancias extraídas a partir de plantas del género *Teprosia* (extractos DTmR y MTmH aislados de *Teprosia madrensis* y la Crassifolina de *Teprosia crassifolia*) en un modelo de ratones CD 1.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la disminución de la inflamación al tratar a los ratones con extractos de *Teprosia*.
- Comparar al final del estudio, por medio de un modelo estadístico, la inhibición de la inflamación en las orejas de los ratones tratados.

HIPÓTESIS

Es conocido que dentro del género *Tephrosia* hay metabolitos que presentan actividad biológica, tal como insecticida, piscicida, espermatocida y últimamente se ha encontrado que también antiinflamatoria, por lo que en el presente trabajo se estudian algunos metabolitos de *Tephrosia madrenensis* y *Tephrosia crassifolia* (DTmR, MTmH y Crassifolina respectivamente) como terapia alternativa para procesos antiinflamatorios en un modelo experimental en ratones CD 1.

MATERIAL

Material vegetal

Extractos de DTmR, MTmH (extracto de diclorometano de *Tephrosia madrensis* raíz, extracto hexánico de *Tephrosia madrensis* hojas) y la Crasifolina de *Tephrosia crassifolia*.

Material

- Cámara de éter
- Pipetas graduadas de 5mL nuevas
- Vaso de precipitado de 50mL marca Pirex
- Eppendorf de 500µL nuevos
- Tubos de ensayo de plástico de 5mL nuevos
- Puntas para pipeta semiautomática
- Cajas Petri marca Kimax
- Perforador Top force

Equipo

- Balanza semianalítica marca Mettler H80
- Ultrasonic processor marca SONICS modelo Vibra Cell
- Micropipetas

Reactivos

- Agua destilada
- Acetona marca EM SCIENCE
- Crotón oil marca Sigma

Fármacos

- Indometacina

MÉTODO

En estudios previos se analizaron los extractos DTmR (extracto de diclorometano de *Tephrosia madrensis* raíz), AETmR (extracto de acetato de etilo *Tephrosia madrensis* raíz), MTmR (extracto metanólico de *Tephrosia madrensis* raíz), MTmH (extracto hexánico de *Tephrosia madrensis* hojas) en los que se observó el efecto antiinflamatorio de los extractos DTmR y MTmH así como también en la Crasifolina que pertenece a *Tephrosia crassifolia*. Sin embargo estadísticamente no hay diferencia significativa por el número de animales utilizados (dos). Razón por la cual se empleó el siguiente modelo con un número mayor de animales.

Modelo de inducción del edema en la oreja del ratón.³⁶

Los reactivos se disolvieron en una solución de acetona-agua. El aceite de crotón es el agente que induce el edema y se colocó en todas las soluciones.

Los reactivos (1), (2) y (3) se manejarán como las sustancias en prueba.

Reactivo (1) aceite de crotón (80µg) y 1mg de Crassifolina.

Reactivo (2) aceite de crotón (80µg) y 1mg del extracto DTmR.

Reactivo (3) aceite de crotón (80µg) y 1mg del extracto MTmH.

Reactivo (4) aceite de crotón (80µg) y 45µg de indometacina, esta mezcla será el testigo positivo con actividad antiinflamatoria.

El reactivo (5) una solución que contenía 80µg de aceite de crotón y está fue el testigo negativo.

Todos los reactivos del ensayo se aplicaron en un volumen de 20µL utilizando una micropipeta.

Posteriormente los ratones se agruparon al azar en 5 grupos y se administró vía tópica en la oreja derecha de cada ratón los reactivos (1,2,3 y 4). En la oreja izquierda sólo se administrará la solución de crotón (5).

Después de 6 horas se sacrificaron los ratones y se les perforaron las orejas usando un perforador cuyo diámetro es de 5 mm (la zona en la que tuvo contacto con las sustancias), se pesaron y se analizaron los resultados comparando los pesos de los testigos (negativo y positivo) con las sustancias en prueba (Crasifolina, DTmR y DTmH).

DISEÑO ESTADÍSTICO

Los datos de los trabajos experimentales requieren ser procesados, de tal manera que se interpreten con facilidad obteniendo el mayor provecho de ellos; lo que implica el uso de un modelo estadístico que permita expresar los resultados con la confianza de que son respaldados por el tratamiento estadístico adecuado.

Los resultados obtenidos fueron procesados con un paquete estadístico para Windows, llamado SPSS versión 10. Este programa tiene los siguientes fundamentos: la estadística descriptiva, cuya finalidad resumir la información que contiene la muestra sobre la naturaleza de la población; y la inferencia estadística la cual extrapola los resultados de la muestra a la población con el objetivo de inferir conclusiones que se refieren a la población y al mismo tiempo proporciona medidas que permiten cuantificar el grado de confianza de las conclusiones proporcionadas.³⁷

Con este programa se analizaron los resultados obtenidos empleando el modelo estadístico de Wilcoxon, el cual es correspondiente a un equivalente a la prueba de t de Student, ya que el modelo es aplicable a muestras pequeñas, siempre y cuando sean mayores que 6 y menores que 25.³⁸

RESULTADOS



Fig. 1 Control negativo (Ratón tratado con aceite de croton).



Fig. 2 Control positivo (Ratón tratado con Indometacina).

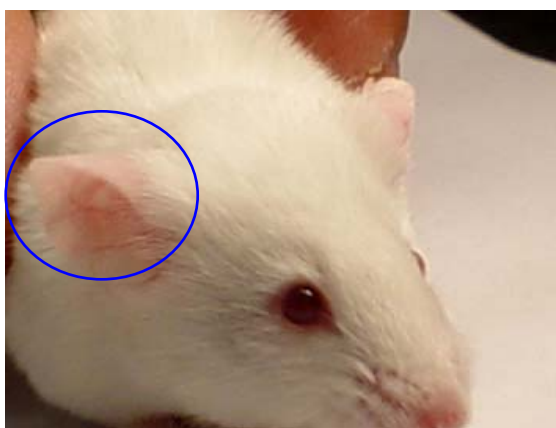


Fig. 3 Ratón tratado con Crassifolina



Fig. 4 Ratón tratado con el extracto MTmH.

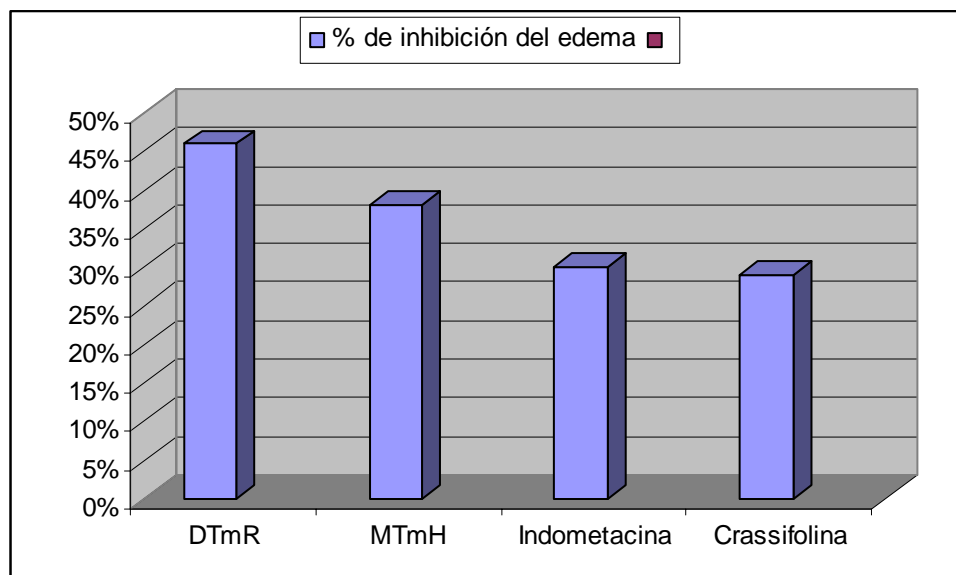


Fig. 5 Ratón tratado con el extracto DTmR.

Tabla 1. Efecto antiinflamatorio de *Teprhosis*

Grupos	peso de la oreja
Testigo negativo	9.5727 \pm 0.1945 (11)
DTmR	5.1182 \pm 0.3419(11)
Crassifolina	6.7500 \pm 0.3728(10)
MTmH	5.8833 \pm 0.6988(6)
Testigo positivo (Indometacina)	6.6500 \pm 0.5346(6)

Se representa la media \pm el error estándar.(.)= número de animales Con P<0.05.



Grafica1. Inhibición del edema (%) con P<0.05 y 95% de confianza utilizando el modelo estadístico de Wilcoxon.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La inflamación es proceso inmunológico que se presenta cuando hay una lesión o daño en un tejido donde sus características principales son el rubor, calor y edema; en la figura 1 podemos observar que en la oreja derecha del ratón CD1 utilizado como modelo biológico presenta rubor y edema; con lo que se demuestra que el aceite de croton puede ser utilizado para inducir la inflamación en los ratones CD1 y en este trabajo se utilizó para inducir la inflamación y como nuestro control negativo.

La figura 2 muestra la disminución de la inflamación al utilizar Indometacina el cual es un agente antiinflamatorio tipo AINE, conocido. Estos resultados se utilizan como control positivo.

Las figuras 3,4,5 se observa el efecto inhibitorio de la Crassifolina, MTmH y MTmR respectivamente, en estas figuras se observa una disminución del proceso inflamatorio lo que implica que las sustancias atenuaron favorablemente la inflamación en comparación con el control negativo.

En la tabla 1 se observan los resultados al finalizar el estudio estadístico, el cual muestra que los extractos de *Tephrosia madrensis* (DTmR y MTmH) presentan una disminución significativa ($p < 0.05$) en el peso de las orejas al finalizar el tratamiento, mientras que la Crasifolina y la indometacina reflejan una menor disminución, la cual no deja de ser significativa ($P < 0.05$) con respecto al testigo negativo.

Este mismo comportamiento se aprecia en la gráfica 1 en la que se observa una mayor inhibición del proceso inflamatorio en las orejas tratadas con DTmR y MTmH (46 y 38% respectivamente); mientras que la Crasifolina y la indometacina (testigo positivo) muestran una inhibición muy similar (29 y 30% respectivamente); con lo que se demuestra que los extractos de *T. madrensis* tienen un mayor poder antiinflamatorio con respecto a la indometacina (testigo positivo) cuyo efecto inhibitorio fue menor y muy parecido al de la Crasifolina.

El mecanismo por el cual el aceite de croton induce la inflamación involucra el incremento del ácido araquidónico y la subsecuente biosíntesis de leucotrienos y prostaglandinas,^{39,40} por lo que la inhibición de la inflamación por parte de los extractos y la Crassifolina probablemente ocurre a nivel de la biosíntesis del ácido araquidónico; tal como lo hace la indometacina la cual actúa al mismo nivel, bloqueando la vía de la ciclooxigenasa e impidiendo de forma no selectiva la síntesis de la prostaglandinas.

CONCLUSIONES

Los extractos DTmR y MTmH aislados de *Tephrosia madrensis* y la Crassifolina aislada de *Tephrosia crassifolia* pueden ser usados como tratamiento antiinflamatorio en el modelo biológico empleado ya que se observó una disminución de la inflamación hasta en un 46%.

RECOMENDACIONES

Realizar un estudio para determinar la actividad farmacológica de los extractos de las leguminosas del género *Tephrosia* y cuyo resultado sea una forma farmacéutica, vía de administración y dosificación adecuada con el fin de obtener un medicamento cuyos efectos secundarios sean menores a los causados por los antiinflamatorios actualmente usados.

REFERENCIAS

1. Margni. Inmunología e inmuoquímica. Fundamentos. 5^a edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana,1996: 435-486.
2. Verganulle N. The inflamatory response. Drug development research.2003;59:375-381.
3. [http://www. Uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm](http://www.Uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm).
4. Roit IM, Delves PJ. Inmunología. Fundamentos. 10^e. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 2003: 282-286.
5. Gallin JI,Goldstein IM, Snyderman R. Inflammation:basic principles and clinical correlates.USA . Raven Press.1988.
6. Male DK, Champion B, Cooke A, Owen M. Cell troffic and inflamation. En advance inmonology.2^a edition. London-New York:Ed. Gower,1991.
7. Roit IM,Brostoff J, Male DK. Inmunología. 2^a edición. Barcelona: editorial salvat,1992.
8. Roderick NM, MacSween, Whaley K. Patología de Muir. 13^aedición. México: Editorial Interamericana-McGraw-Hill,1995:92-121.
9. Smith CM, Reynard AM. Farmacología. Argentina: Editorial Medica Panamericana,1993:393-421.
- 10.Smith CM, Reynard AM. Essencials of pharmacology. USA: Saunders Company A Division of Harcourt Brace and Company, 1995: 148.
- 11.Hollander D. Gastrointestinal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: prophylactic and therapeutic strategies. Am. Journal Medic:1994; 96:270-281.
- 12.Bowman WC, Rand MJ. Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. 2^a edición. México: Nueva Editorial Interamericana, 1984: 13.15-13.18.
- 13.Estes LL, Fuhs DW, Heaton AH, Butwinick CS. Gastric ulcer perforation associadted with the use of injectable ketorolac. Ann Pharmacother.1993;27:42-43.
- 14.Vane JR. Inhibition of prostaglandin síntesis a a mechanism of actino for the aspirin like drugs nature. 1971;(231):232-235.

15. Dewitt DL, Meade EA, Smith WL. PGH synthase isoenzyme selectivity: the potential for safer nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Am. Journal Medic.* 1993;95(2a):405-445.
16. Delmas PD. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and renal function. *Br Journal Rheumatology.* 1995 ;34 (1) :25-28.
17. Ciabattoni G, Boss AH, Patragnani P. Effects o sulindac on renal and extrarenal eicosanoid synthesis. *Clinic Pharmacology Ther.* 1987;41:380-383.
18. Kemp SF, Lokey RF, Wolf BL, Lieberman P. Anaphylaxis. A review of 266 cases. *Arch. Intern. Med.*1995 ;(155):1749-1754.
19. Tintinall JE, Ruiz E, Krome RL. *Emergency Medicine. A comprehensive study guide.* 4^a edition. Editorial McGraw-Hill. 1996:793.
20. Zaragoza A, Alfonso V, Roig E. Hepatotoxicidad inducida por AINES: aceclofenac y diclofenac. *Rev Esp Enferm Dig.* 1995;87(6):472-475.
21. de Leeuw PW. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and hipertensión.the risks in perspective. *Drugs.* 1996; 51(2):179-187.
22. Vólac J. Stodola J. *Plantas medicinales.* 6^a edición. España: Susaeta ediciones,1997:6.
23. Kumate j. *La medicina herbolaria contemporánea. La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana.* México: Secretaria de Salud,1993:11-12
24. Rzedowski J. Rzedowski G. *Flora fanerogama del valle de México:* Editorial Continental, 1979(1):43.
25. Martínez M. *Las plantas medicinales de México.* 6^a edición. México: Editorial Botas,1967:493.
26. Gómez-Garibay F. *plantas mexicanas género *Tephrosia*.* México: Instituto de Química, 2001:7-35.
27. Shaltasa H, Bermejo P, Lázani D, Silvan AM, Skaltsounis AL, Sanz A, et al. Inhibition of prostaglandin E2 and leucotriene C4 in mouse peritoneal macrophages and thromboxane B2 production in human platelets by flavonoids from *Stachys chrysantha* and *Stachys candida*. *Bio Pharm Bull.*2000;23(1):47-53.
28. Robak J, Gryglewski RJ. Bioactivity of flavonoids. *Pol J Pharmacol.* 1996;48(6):555-564.

29. Middleton EJR. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *And Exp Med Bio.* 1998;439:175-182.
30. Brandao MGL, Freire N, Vianna-Soares CD. Surveillance of phytotherapeutic drugs in the state of Minas Gerais. Quality assessment of commercial samples of chamomile. *Cad Saude Publica.* 1998;14(3):613-616.
31. WHO. Monographs on selected medicinal plants. Geneva: World Health Organization; 1999(1):86-94.
32. Narizawa T. An overview on chemoprevention of colorectal cancer. *Nippon Gerka Gekai zasshi.* 1998 ; 99(6) : 362-367.
33. Sánchez I, Gómez-Garibay F, Taboada J, Ruíz BH. Antiviral effect of flavonoids on the dengue virus. *Phytother Res.* 2000; 14 (2): 89.
34. Arciniega de la O M. Tesis de maestría. 1999.
35. Mavar MH, Brkic D, Mane DEP, Quentin C. In vitro anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia*. *Journal of Ethnopharmacology.* 2004; 92 (2-3):209-214.
36. Ferrán AM. SPSS para Windows. Programación y análisis estadístico. España: Editorial McGraw-Hill, 1996.
37. Castilla SL, Cravioto J. Estadística simplificada. México: Editorial Trillas, 1991: 182-187.
38. Ashendel GL. Prostaglandin E and F levels in mouse epidermis are increased by tumor promoting phorbol esters. *Biochemical and Biophysical Reserach commications.* 1979;90:623-627.
39. Furstenberg G, Marks F. Early prostaglandin E synthesis is an obligatory event in the induction of cell proliferation in mouse epidermis in vivo by phorbol ester TPA. *Biochemical and Biophysical Reserach commications.* 1980;92:749-756.