



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CAMPUS IZTACALA

VALORACIÓN DE LOS EFECTOS DE *Chamaedora tepejilote*, *Sphaeralcea angustifolia*, *Larrea tridentata* Y *Juniperus communis* EN EL MODELO DE ARTRITIS REUMATOIDE ACII

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**BIÓLOGO**

P R E S E N T A

**FERNANDO SALAZAR SIERRA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **Jurado Asignado:**

Presidente: Dr. Roberto Velasco García

Vocal: Dra. Mariana Meckes Fischer

Secretario: Dr. Ignacio Peñalosa Castro

1er suplente: M. en C. Ma. del rocío Vargas Martínez

2do suplente: M. en C. Hugo Perales Vela

Dra. Mariana Meckes Fischer

Directora

Sustentante: **Fernando Salazar Sierra**



La presente tesis se desarrolló en La Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales, de la Coordinación de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, bajo la dirección de la Dra. Mariana Meckes Fischer.



El presente estudio es parte del proyecto “*Estudio químico y evaluación farmacológica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana como antiinflamatorios, analgésicos y antiasmáticos*” que recibió apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) No. 34761-M.

## **DEDICATORIAS**

A El Origen Supremo del Universo por permitirme su Gran Amor y ser parte de Él, y en este mundo darme las herramientas necesarias de la vida para culminar este trabajo.

A las culturas ancestrales de América Latina, hijos de maíz, águilas, cóndores y quetzales que han guardado y preservado la sabiduría de nuestros pueblos.

A mi abuelita Leonor, por su amor y su apoyo para culminar la carrera.

A mi papá, por ser una gran hombre y un maravilloso padre, y enseñarme con su ejemplo que siempre hay que luchar en la vida, y nunca desistir.

A mi mamá, por enseñarme que amor es el eje del universo, que el perdón es la cura de todo y la paciencia y el esfuerzo continuo hacen que se muevan las montañas.

A mi hermana, por ser el primer ejemplo de mi niñez, la amiga en tiempos de crecimiento y la consejera de muchos actualmente (y también por patrocinar la impresión de esta tesis).

A los amigos MT, grandes amigos con quienes he vivido con intensidad, y que han sido también mis maestros, confidentes, espejos, compañeros de batalla, hermanos de sangre, y todos en conjunto han transformado mi vida.

A los amigos de generación, porque con ustedes, caminé, acampé, aprendí, reí, lloré, en fin, viví intensamente, mas allá de ser compañeros de estudio, compañeros de vida. Está de mas nombrarlos, pues ustedes al leerlo, sabrán quienes son. Siempre los voy a recordar.

A Lucy por incidir en mi vida en el tiempo justo, y así, tan simple, sin pretender, me mostraste donde están las herramientas para trascender de la ignorancia, la visión corta y el miedo.

A los amigos que me han aceptado como soy, a todos ustedes dedico esta tesis, pues me mostraron que la amistad verdadera es perenne, sempiterna e inamovible, pues estuvieron conmigo en toda circunstancia, y me enseñaron a ser un verdadero amigo, ustedes leerán este texto y sabrán quienes son.

A ti, que tomarás un tiempo para leer este texto, quizá con la razón de buscar al menos una pequeña semilla de conocimiento.

Finalmente dedico esta tesis, sabiendo que llegará a sus manos, a quines no creyeron en mí, a quienes se preocuparon solo en entorpecer mi camino, a quines su lengua la utilizaron para infringir heridas, a quienes jamás se imaginaron que este trabajo fuera solo el inicio de una larga carrera profesional, a quienes negaron su apoyo cuando mas lo necesité, a quienes se preocuparon en remarcar mis errores antes de corregir los suyos, a todos ellos... mi mas sincera compasión.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACyT, por todo el apoyo concedido para realizar el estudio del que ésta tesis forma parte.

Al IMSS, por permitirme realizar este estudio dentro de esta institución y formar parte de la investigación desarrollada en esta instancia.

A la FES Iztacala, por darme las herramientas académicas y la base para mi carrera profesional

A la Dra. Mariana Meckes, por permitirme su asesoría para desarrollar esta tesis, y darme parte de las herramientas para el camino de la investigación

A mis compañeros de laboratorio, de quienes aprendí sobre el trabajo en equipo, y con quien viví una convivencia armónica, y con otros, lo que no se debe hacer como compañero a través de su ejemplo. Gracias por todo.

A la adversidad, maravilloso proceso de la vida que me ha fortalecido.

Como Alpha y Omega, al Principio Y Fin del Cosmos, Dualidad Eterna, que sin embargo, es indisoluta y esparcida. Gracias infinitas señor, por permitirme concluir esta etapa para iniciar una nueva.

**Uno a uno voy reuniendo  
Cual gredas de jade voy engranando  
Con sacrificio voy fortaleciendo  
Con plumas de quetzal voy engrandeciendo**

**He aquí y ahora que Yo Soy el que Soy**



**yo soy tu,  
porque tu eres yo**



# INDICE

	Pagina
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTECEDENTES.....	14
2.1 <i>Generalidades de la respuesta inmunitaria.....</i>	14
2.2 <i>La artritis reumatoide.....</i>	21
2.3 <i>Fármacos en el tratamiento de la artritis reumatoide y sus efectos secundarios nocivos.....</i>	31
2.4 <i>Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la artritis reumatoide.....</i>	40
2.5 <i>Descripción de las plantas seleccionadas como probables antiartríticos.....</i>	45
2.6 <i>Modelos biológicos para el tratamiento de la artritis reumatoide.....</i>	58
3 OBJETIVO GENERAL.....	61
3.1 <i>Objetivos particulares.....</i>	73
4 HIPÓTESIS.....	62
5 JUSTIFICACIÓN.....	63
6 MATERIAL Y MÉTODOS.....	64
7 RESULTADOS.....	68
8 DISCUSIÓN.....	83
9 CONCLUSIONES.....	87
10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
11 ANEXOS.....	100

## RESUMEN

Las plantas medicinales constituyen uno de los recursos de la medicina tradicional mexicana, un número importante de especies vegetales son reportadas para tratar la inflamación o síntomas relacionados con la artritis reumatoide. Siguiendo la línea de investigación sobre plantas con actividad antiinflamatoria que se desarrolla en el IMSS, la presente tesis muestra los resultados obtenidos en la evaluación de los efectos producidos por los extractos de *Chamaedora tepejilote*, *Larrea tridentata*, *Sphaeralcea angustifolia* y *Juniperus communis* en el modelo de artritis reumatoide ACII, así como la evaluación de la aplicación tópica del extracto clorofórmico de *S. angustifolia* en el modelo de edema auricular en el ratón, producido por el 12-O-tetradecanoílforbol-13-acetato (TPA) un agente irritante.

Los extractos de las cuatro especies fueron evaluados a dosis de 100 mg/kg de peso corporal en el modelo ACII. En el estudio se realizaron determinaciones aplicando dosis única y repetidas de los extractos cada 24 hrs. El extracto de *J. communis* evaluado en dosis única presentó actividad inhibitoria sobre el edema con valores de 41.24 % (4 hrs); en dosis repetidas se obtuvieron a las 48 y 72 hrs valores que no fueron significativos respecto al grupo control. El extracto de *Ch. tepejilote* de una colecta realizada en el mes de Marzo y evaluado en dosis única presentó actividad inhibitoria sobre el edema con valores de 89.65 % (1 hr), 88.58 % (3 hrs), 58.24 % (5hrs) y 50.96 % (24 hrs), 41.45 (48 hrs) y 15.09 % (72 hrs); en

dosis repetidas se obtuvieron valores de 50.72 % (48 hrs) y 49.33 % (72 hrs). El extracto de *Ch. tepejilote* de una colecta realizada en el mes de Diciembre y evaluado en dosis única, presentó actividad inhibitoria sobre el edema con valores de 58.60 % (1 hr), 36.97 % (3 hrs), 15.25 % (48 hrs) y 6.77 % (72 hrs); en dosis repetidas se obtuvieron valores de 49.95 % (48hrs) y 35.45 % (72hrs). El extracto de *L. tridentata* evaluado en dosis única presentó actividad inhibitoria sobre el edema con valores de 64.22 % (1 hr), 50.97 % (3 hrs), 36.98 % (24 hrs), 21.23 (48 hrs) y 01.22 (72 hrs); en dosis repetidas se obtuvieron valores de 63.52 % (48 hrs) y 23.89 % (72 hrs). El extracto de *S. angustifolia* evaluado en dosis única presentó actividad inhibitoria sobre el edema con valores de 68.29 % (1 hr), 74.55 % (5hrs), 65.70 % (24 hrs), 40.30 (48 hrs) y 05.84 (72 hrs); en dosis repetidas se obtuvieron valores de 78.84 % (48 hrs) y 51.20 % (72 hrs).

El extracto clorofórmico de *S angustifolia* fue evaluado en el modelo del edema auricular inducido con TPA, encontrándose un efecto inhibitorio de 77.15 % cuando fue aplicado el extracto inmediatamente después del irritante, 72.27% se presentó a 1hr y 29.89 % a las 3hrs después de aplicar el TPA. En comparación con la indometacina, el extracto tuvo valores cercanos en este modelo.

De las cuatro especies evaluadas, el extracto clorofórmico de *S. angustifolia* es el que presentó mayor actividad inhibitoria en la fase prolongada del edema en el modelo ACII, y efecto inhibitorio significativo en el modelo de edema auricular con TPA, por lo que resulta un candidato idóneo para proseguir con los estudios

químico-farmacológicos para identificar los principios responsables que presentó el extracto íntegro.

# 1. INTRODUCCIÓN

En México, el uso de plantas como uno de los recursos de la medicina tradicional es frecuente; entre el 60 y 70% de la población utiliza la herbolaria para tratar los padecimientos más comunes. La medicina tradicional integra a las prácticas que se van constituyendo como dominantes, aunque algunas no necesariamente vienen del pasado (Campos, 1992). La medicina tradicional en México ha persistido a través del tiempo y además de considerar aspectos estrictamente relacionados con la terapéutica, constituyen también una fuente de identidad para las culturas étnicas ancestrales (Lagarria, 1966). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha concentrado parte de su interés en la medicina tradicional de diversos grupos culturales de todo el mundo para preservar y proteger los conocimientos de la medicina tradicional y las reservas de plantas medicinales con el fin de promover el desarrollo sustentable (OMS, 2003).

A nivel mundial, existe un número importante de plantas a las que se atribuyen propiedades medicinales y que son usadas, solas o combinadas, para tratar los padecimientos más comunes entre la población; entre éstos, se encuentran los padecimientos relacionados con procesos inflamatorios y artríticos (Abad y col., 1996). El interés que representan las plantas medicinales para la industria farmacéutica y para el medio académico radica en las posibilidades que ofrece este recurso para el hallazgo de nuevas estructuras biológicamente activas,

fármacos potentes que posean menos efectos colaterales indeseables. Investigaciones modernas en el campo de los fármacos antiinflamatorios están dirigiéndose al desarrollo de compuestos potentes, tolerables para el tracto digestivo (Bani y col., 2000). Por otra parte, los denominados fitofármacos que se obtienen a partir de productos vegetales y que se presentan en diferentes formas de preparados tales como la planta completa, extractos o fracciones activas, constituyen una nueva generación de medicamentos de gran impacto actual (Butterweck, 2003).

En las últimas décadas, en México se ha realizado una importante labor relacionada con la actualización de la información etnobotánica sobre el uso de la herbolaria medicinal en el país. Esta información está vertida en fuentes diversas y en colecciones de herbarios como las pertenecientes al IMSS y otras Instituciones Académicas (IMSSM, IZTA, MEXU, XAL etc.) El análisis de la información existente en los bancos de datos permite deducir que son numerosas las especies utilizadas para tratar procesos inflamatorios (IMSS, 1994).

La Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS, tiene una línea de investigación químico-farmacológica para la valoración experimental de plantas utilizadas en México como “probables antiinflamatorios”. Los resultados obtenidos señalan que algunos extractos obtenidos de diferentes especies botánicas presentan efecto inhibitor sobre la formación del edema en la fase tardía (Meckes y col., 2002; 2003), efecto que es prolongado, lo que ha llevado a proponer un estudio siguiente

para valorar estos extractos en el modelo de artritis reumatoide ACII (Mizushima y col., 1972).

En la presente investigación se valoraron los efectos del extracto acuoso de *Chamaedora tepejilote*, extracto metanólico de *Larrea tridentata*, extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* y extracto metanólico de *Juniperus communis* en el modelo de artritis reumatoide AC II.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 GENERALIDADES DE LA RESPUESTA INMUNITARIA**

La respuesta inmunitaria tiene como función primordial diferenciar lo propio de lo ajeno al organismo: partículas ambientales, moléculas, microorganismos patógenos etc., son estímulos que pueden desencadenar una respuesta inmunitaria. En las respuestas inmunitarias participan de manera activa los leucocitos, células que son de varios tipos: fagocitos (monocitos, macrófagos y neutrófilos polimorfonucleares) que tienen como función la destrucción del agente invasor y los linfocitos que son las células predominantes en este proceso (Stites y Terr, 1993)

En la embriogénesis de los vertebrados, el timo es el primer órgano responsable de la producción de células linfocíticas, juega un papel relevante en el desarrollo y la función del sistema inmunitario ya que proporciona el microambiente necesario para que se lleve a cabo la maduración de las células T, un 75% de los linfocitos en el timo se localizan en la corteza profunda. Asimismo, la médula ósea es el órgano hematopoyético primario, fuente importante para la producción de linfocitos B (Margni, 1996).

Existe una línea de células linfoides reconocidas como células asesinas naturales (NK “natural killers”) que actúan sobre células tumorales e infectadas por virus.



Los precursores de estas células carecen de las características fenotípicas, genotípicas y funcionales del resto de los linfoides y fagocitos mononucleares. La actividad citotóxica de las NK se debe a que se adhieren y lisan células tumorales o infectadas por virus, el mecanismo aún no está bien esclarecido (Tsokos, 2000).

Los dos tipos importantes de linfocitos en la respuesta inmunitaria son los linfocitos B y T. Por medio de un receptor, el linfocito B reconoce a un antígeno determinado en la superficie del microorganismo e inicia la división y diferenciación celular liberando moléculas receptoras solubles en gran cantidad (anticuerpos) las cuales se unen al antígeno. Mientras una parte de la molécula del anticuerpo se une con el antígeno (Fab), otras partes interactúan con otros elementos del sistema inmunitario tales como el fagocito (Fc) o bien, con una molécula del complemento (C1q). Por otro lado, los linfocitos T tienen diversas actividades: 1) ayudan a eliminar al antígeno uniéndose con la células presentadoras de antígeno (APC) ( $T_H$  o T-helpers), 2) reconocen células infectadas por virus o patógenos intracelulares y las destruyen ( $T_c$  o T-citotóxicas). 3) activan a los linfocitos B para la producción de anticuerpos (Stites y Terr, 1993).

En la respuesta inmunitaria se produce un mecanismo inicial inespecífico contra el agente invasor, es la llamada respuesta inmunitaria innata, natural o nativa y que está dada por una serie de reacciones de fase aguda en la que participan eosinófilos, neutrófilos, macrófagos, el complemento y las células NK. Cuando el agente patógeno es una bacteria se activa la vía alterna del complemento facilitando la fagocitosis; si es un virus, es importante resaltar la participación que

tienen las células NK y los interferones del tipo  $\alpha$  y  $\beta$ , éstas últimas constituyen un grupo de proteínas inmunoregulatoras sintetizadas por los fibroblastos y que tienen la capacidad de activar a las células NK a la vez que aumentan la resistencia de las células normales a los virus. En esta respuesta, la piel y las mucosas actúan como una primera barrera de defensa contra los agentes invasores. Los anticuerpos producidos en la respuesta innata comúnmente tienen reacciones cruzadas y son de baja afinidad (Cruse y Lewis, 1995).

La respuesta adaptativa es subsecuente a la innata y de gran especificidad hacia el inmunógeno - por su memoria - en encuentros subsecuentes con el mismo inmunógeno o con otros relacionados, la respuesta se intensifica. Las células que destacan en la inmunidad adaptativa son las T y B (Haneey y Travers, 1997).

En todas las células que desempeñan un papel determinante en la presentación y reconocimiento del antígeno, existe el llamado complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Éste es codificado por la familia de los "supergenes" de las inmunoglobulinas. Los genes del MHC juegan un papel importante en el reconocimiento de lo propio de lo no-propio, pues algunos de éstos codifican fragmentos polipeptídicos del antígeno (inmunógeno) que son determinantes en la respuesta inmunitaria. Los inmunógenos son reconocidos por los receptores de los linfocitos T (TCR), solamente cuando un fragmento de éste se encuentra unido al MHC (antígeno MHC) y se expresa en la superficie de la membrana celular. Existen diferentes clases genéticas del MHC, el MHC-clase I se expresa en la

mayoría de las células nucleadas, mientras que el MHC-clase II se expresa en macrófagos, células dendríticas, de Langerhans, de Kupfer y linfocitos B. Las células presentadoras de antígeno (APC) que expresan MHC clase I se les llama no profesionales, mientras que a las que expresan MHC clase II se les llama profesionales. Aunque los mecanismos involucrados en la patogénesis de las enfermedades autoinmunitarias no están aún totalmente esclarecidos, en el humano, los *loci* DR, DQ y DP de los genes MHC clase II se asocian particularmente con estos padecimientos. En los humanos existe además el MHC clase III que no se expresa en la superficie de la membrana celular, por lo tanto, no tiene como función presentar el antígeno (Margni, 1996; Morrow y col., 1999). Los pasos iniciales de la respuesta inmunitaria comprenden la captura y procesamiento del inmunógeno por las células APC, éstas captan al inmunógeno por fagocitosis o endocitosis (Figura 1).

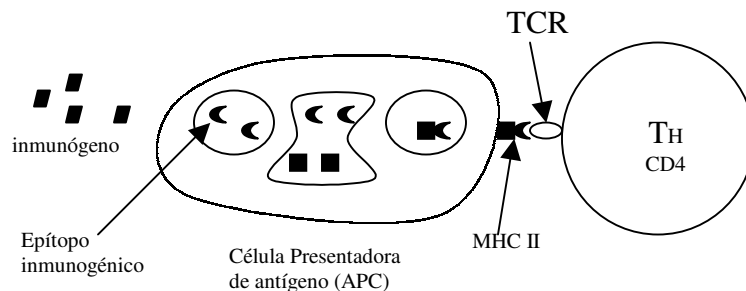


Figura 1 el inmunógeno es captado y procesado por la APC, y el epítipo inmunogénico unido al MHC II se expresa en la superficie celular para ser reconocido por las células  $T_H$ .

Si el inmunógeno experimenta proteólisis, sus fragmentos se unen por fuerzas no-covalentes a moléculas MHC clase II de las APC y el complejo es transportado a la superficie celular para ser presentado a los linfocitos  $T_H$  que se unen a través de sus TCR (Figura 2). Para la activación de las  $T_H$  se requiere además como señal, la producción de interleucina-1 (IL-1) que es una proteína soluble que produce la APC (McArty y Koopman, 1993).

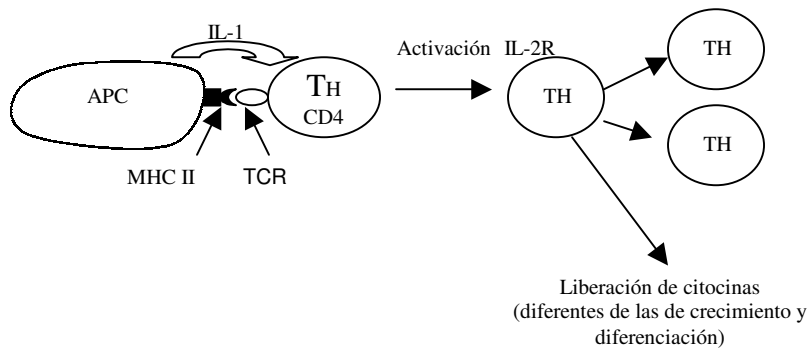


Figura 2. Activación de la célula  $T_H$ . La APC presenta un epítipo en el marcador MHC II, dando así la 1era señal de activación, luego la 2ª señal de activación es dada por la IL-1 producida por la APC. La  $T_H$  activada, a su vez produce y expresa marcadores IL-2 para autoactivación y proliferación de células  $T_H$ , así como la producción de linfocinas.

La activación de la célula  $T_H$  es clave para la activación siguiente de los linfocitos  $T_C$ . Estos se distinguen de  $T_H$  por la presencia de proteínas CD8 en su superficie en lugar de CD4, por lo tanto, reconocen en las células APC a los antígenos MHC clase I. La función de las células  $T_C$  es lisar células infectadas por virus que expresan antígeno en el MHC, así como células tumorales. Para ser activadas requieren además de su interacción con APC, de la IL-2 que se produce en la  $T_H$  activada. La Figura 3 ilustra la activación de  $T_C$  por un antígeno.

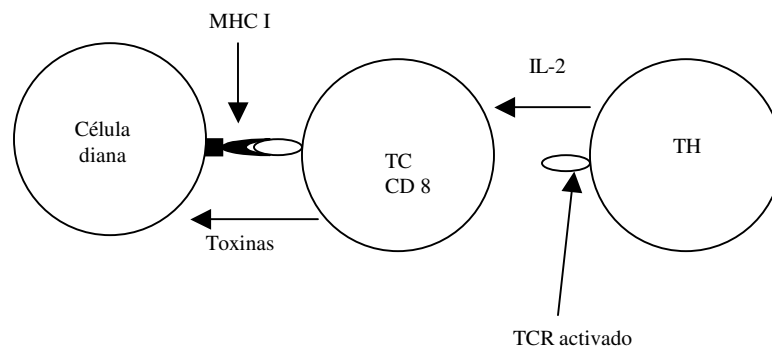


Figura 3. Activación de célula  $T_C$  por una célula  $T_H$  activada. La IL-2 junto con un epítipo antigénico procesado en el MHC clase I activan a la TC que secreta moléculas citotóxicas contra la célula blanco.

Por otra parte, la activación de linfocitos B requiere de los  $T_H$  activados. El linfocito B tiene la capacidad de actuar como APC endocitando y procesando un fragmento del antígeno que es expresado en la membrana unido con el MHC II para luego formar un complejo inmunogénico con los receptores de la célula  $T_H$  activada. Esta unión, y la liberación de linfocinas BCGF (factor de crecimiento para células B) y BCDF (factor de diferenciación de células B) liberadas por las células  $T_H$ ,

desencadena la diferenciación a células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Así mismo, otro grupo de células B se diferencian como linfocitos B con memoria (Figura 4), estas células con memoria poseen la capacidad de responder ante la presencia del inmunógeno específico en posteriores invasiones (Singer y Hodes, 1983)

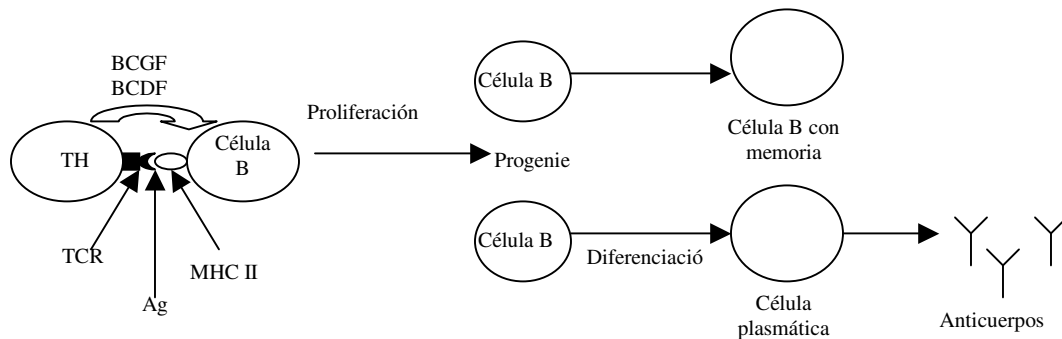


Figura 4. Activación y diferenciación de los linfocitos B. A través de la célula TH y del antígeno se induce la activación y diferenciación de células B, algunas como células con memoria y otras maduran hasta célula plasmática secretando anticuerpos.

El linfocito B expresa en la membrana una gran variedad de glicoproteínas denominadas inmunoglobulinas (Ig) que son receptores de antígenos, los anticuerpos son la forma soluble de estos receptores.

Las inmunoglobulinas (Ig) poseen una estructura básica simétrica de cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas idénticas pesadas (H) y dos cadenas idénticas ligeras (L) unidas por enlaces covalentes disulfuro. En la región Fab, la mitad de las cadenas ligera y pesada posee un región variable (V) en la secuencia de aminoácidos y la otra mitad es constante (C). Con respecto a las

inmunoglobulinas de membranas (receptores de antígenos), éstas se diferencian de los anticuerpos por tener un número mayor de aminoácidos en la región C de las cadenas pesadas. Las cadenas se pliegan en dominios, los primeros son llamados variables (V). Existen también otros dominios llamados constantes (C) con cadenas H y cadena L del tipo  $\kappa$  o  $\lambda$  (Figura 5).

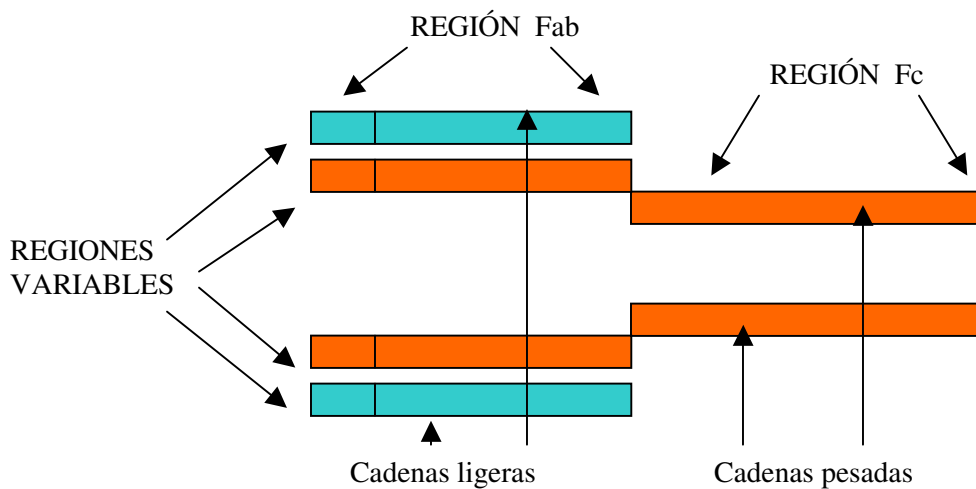


Figura 5. Esquema general de la estructura básica de una inmunoglobulina mostrando sus cadenas y regiones.

En los mamíferos existen cinco clases de Ig que se diferencian por su tamaño molecular, cargas, la composición de aminoácidos y el contenido de carbohidratos: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. En el humano las IgG tienen subclases (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) en las que las cadenas pesadas difieren ligeramente y en IgA se han identificado las subclases IgA1, IgA2. Para IgM, IgD y IgE no se han descrito subclases (Paul, 1993). La IgG es la predominante en suero humano y en la respuesta inmunitaria adaptativa, es la única que atraviesa placenta y confiere inmunidad al feto. La IgM es de estructura pentamérica y es eficaz fijadora del complemento, además, es la que primero aparece en la membrana de los linfocitos B en desarrollo. El dímero IgA es predominante en las secreciones de las

seromucosas (saliva, lágrimas, leche, secreciones traqueobronquiales, genitourinarias y del intestino delgado), la IgD se encuentra en altas concentraciones en la membrana de los linfocitos B y posiblemente participa en el proceso de diferenciación. Finalmente, la IgE se encuentra en la membrana de los basófilos y de las células cebadas, se une a los receptores en estas células y dispara la degranulación liberando mediadores (cuadro 1), es la responsable en casos de alergias comunes (Day, 1990).

RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y FÍSICOQUÍMICAS PRINCIPALES DE LAS INMUNOGLOBULINAS					
Clase de inmunoglobulina	IgG	IgM	IgA	IgE	IgD
Características	Predominante en el suero	Primera en activarse en la respuesta inmunitaria	Presente en secreciones de mucosas y calostro	Activa en casos de alergias	Presente en la membranal de células T
Peso molecular	150 000	900 000 (pentámero)	160 000 (dímero)	180 000	200 000
Cadena pesada	$\gamma$	$\mu$	$\alpha$	$\epsilon$	$\delta$
Cadena ligera	$\kappa \lambda$	$\kappa \lambda$	$\kappa \lambda$	$\kappa \lambda$	$\kappa \lambda$
% de carbohidrato	3	12	8	12	13
Aglutinación	+	+++	+	-	-
Fijación del complemento	clásica	+	+++	-	-
	alterna	-	-	+/-	-
Unión con células cebadas		-	-	+	-

Cuadro 1. muestra las principales características biológicas y fisicoquímicas de las Ig humanas.



Las inmunoglobulinas son moléculas bifuncionales ya que se unen al antígeno por medio de los idiotipos en la región variable de Fab y también pueden interactuar con elementos del sistema inmunitario como son los fagocitos y las moléculas del complemento a través de sitios correspondientes a la porción Fc, incrementando de esta manera la capacidad de fagocitosis.

El rearrreglo del DNA del linfocito B que ensambla exones V/(D)/J o produce el cambio del isotipo, es el factor responsable de la gran diversidad de anticuerpos que se generan. Las inmunoglobulinas producidas por un linfocito B individual tienen especificidad antigénica idéntica que se determina por la estructura de sus exones en la región V, los antígenos serán los causantes de los rearrreglos posteriores y la consecuente heterogeneidad de la inmunoglobulina. La variación isotópica se refiere a diferentes clases de cadenas ligeras y pesadas, la variante alotípica ocurre en las regiones constantes en tanto que, las variantes idiotípicas se presentan en las regiones variables y los idiotipos son específicos para cada molécula de anticuerpo (Tonegawa, 1983).

El anticuerpo y el receptor de antígeno de los linfocitos T (TCR) comparten características comunes, ambos poseen dominios V y C y los antecedentes genéticos que conllevan a los dominios variables; sin embargo, la forma en que las células B y T reconocen al antígeno es muy diferente. El antígeno en su estructura nativa es reconocido por el anticuerpo en solución o como receptor (inmunoglobulina) en la membrana de la célula, en cambio el TCR reconoce un

fragmento del antígeno unido a la molécula MHC e integrado a la membrana de la célula APC.

La célula T entra en acción cuando a través del TCR se pone en contacto con fragmentos del antígeno y del MHC (ligando) y se auxilia por moléculas accesorias CD4 o CD8 expresadas en la superficie de  $T_C$  las cuales se unen a las moléculas MHC en la región no-polimórfica (Figura 6). La función del TCR en enfermedades autoinmunitarias ha sido tema de estudios recientes y hay pruebas realizadas con cultivos de linfocitos T de líquido sinovial extraído de pacientes con artritis reumatoide que indican un predominio de rearrreglos específicos de la cadena  $\beta$  del TCR que difieren de un individuo a otro (Rooney y col., 1988)

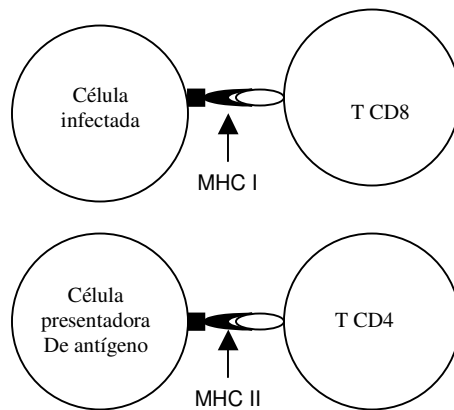


Figura 6. célula T CD4 reconoce al antígeno a través de células con MCH clase II; mientras que las células T CD8 reconocen a células con MHC clase I.

### *Regulación de la respuesta inmunitaria*

Después de la eliminación del inmunógeno, la respuesta inmunitaria se abate previniendo así la activación incontrolada de linfocitos y regulando la producción de anticuerpos. Para esto, existe un proceso de regulación negativa que restringe la respuesta inmunitaria; por retroalimentación, se produce mayor síntesis de anticuerpos que eliminan al antígeno residual, consecuentemente se elimina el estímulo inmunogénico. Por otra parte, tomando como base la teoría de la “red de idiotipos” se puede asumir la existencia de un sistema específico de regulación. Después de la estimulación antigénica, se expande el número de clonas capaces de reconocer el epítipo del antígeno, por lo tanto, es elevado el número de idiotipos particulares. Estos idiotipos funcionan como señal inmunogénica para producir anticuerpos anti-idiotipo (anticuerpo-2) los cuales poseen ahora idiotipos propios y pueden a su vez, generar anti-anti-idiotipos llamados anticuerpo-3 (Stites y Terr, 1993). Se ha propuesto que existe otro sistema de regulación a través de las células supresoras ( $T_S$ ) que actúan sobre las células  $T_H$  inhibiendo su acción sobre los linfocitos B. Las células  $T_S$  expresan CD8 al igual que las  $T_C$ , pero a diferencia de estas últimas, no ejercen actividad citotóxica. Las  $T_S$  actúan sobre los epítipos del antígenos o del TCR de las células T; sin embargo, actualmente se cuestiona sobre la existencia de dichas  $T_S$  (Margni, 1996).

### *Autoinmunidad*

La autoinmunidad (presencia de autoanticuerpos) es un proceso que ocurre de manera normal en el organismo; sin embargo, su manifestación incontrolada es un estado patogénico. La autoinmunidad se involucra en la respuesta inmunitaria ante la presencia de células virales o tumorales (Morrow y col., 1999).

Las enfermedades autoinmunitarias (EA) son multifactoriales y pueden presentar más de un mecanismo de inducción. El factor más significativo es el genético, siendo los genes del MHC, los genes del TCR y los de las Ig los directamente vinculados (Margni, 1996). Las EA también se pueden desencadenar en virtud de semejanzas entre los determinantes antigénicos de un antígeno extraño y los propios. Áreas de identidad entre un determinado virus y un antígeno propio (mimetismo molecular), también puede producir autoinmunidad. Otro factor patogénico en enfermedades autoinmunitarias vincula a antígenos extraños inmunogénicos que pueden combinarse con los propios e inducir una respuesta inmunitaria contra el antígeno propio, tal es el caso del antígeno MHC que puede actuar como un acarreador para antígenos propios adyacentes (Sturgess, 1992). Así mismo, la liberación de antígenos secuestrados o presentes en sitios privilegiados, asociados con tejidos periféricos tales como el páncreas o gónadas, y que normalmente no están en contacto con el repertorio de células T, al liberarse actúan como autoantígenos, induciendo a su vez la producción de autoanticuerpos (Neparstek y Plitz, 1993). Existe también la teoría que plantea que cada proteína propia presenta un pequeño número de epítomos o determinantes antigénicos dominantes relacionados con la selección negativa, siendo tolerados por el organismo, y por otra parte existen epítomos que por no ser dominantes no

inducen tolerancia, estos epítomos son llamados crípticos o subdominantes, la presencia de este tipo de epítomo induce autoreactividad entre linfocitos T y epítomos propios (Rokeach, y Hoch, 1994). La teoría de lo “propio modificado” postula que la autoinmunidad se induce como respuesta contra epítomos propios modificados, siendo éstos no reconocidos, actuando finalmente como autoantígenos (García y col., 1994).

### *La respuesta inflamatoria*

La respuesta inmunitaria activa a los linfocitos T y la producción de anticuerpos específicos que permiten reconocer al antígeno en eventos subsecuentes, se pueden desencadenar varios procesos, entre ellos la inflamación. La inflamación es una respuesta que no se limita sólo a estímulos inmunitarios ya que las células y los mediadores de la inflamación pueden ser activados por medios físicos no-inmunitarios (traumatismo, lesión, calor, etc) y químicos (Margni, 1996). La unión del antígeno con el receptor del linfocito T o el anticuerpo específico provoca el reclutamiento de células inflamatorias (IMC) y de mediadores químicos endógenos, en algunos casos se altera la función normal del tejido por incremento de la permeabilidad vascular y la contracción del músculo liso visceral. Las células T efectoras ( $T_{DH}$ ) que producen IMC requieren también de la presentación del antígeno y su activación conduce a la secreción de linfocinas. Estas a su vez, atraen por quimiotaxis a los monocitos, granulocitos, basófilos, linfocitos T y B. En la IMC el granuloma es el resultado de una estimulación antigénica local continua, la hipersensibilidad retardada se puede lograr de manera natural a través de

infecciones y de manera artificial, a través de inmunizaciones y por contacto con productos químicos que actúan sobre piel y mucosa (Wasserman, 1983).

La inflamación también puede estar mediada por el complejo inmunitario, ocurre después de la interacción antígeno-anticuerpo de ciertos isotipos inmunoglobulínicos que activan la cascada del complemento. El sistema del complemento comprende unas 25 proteínas solubles en el suero y receptores específicos que se encuentran en la membrana de las células inmunitarias, constituye una de las vías efectoras importantes en el inicio y amplificación del proceso inflamatorio (Muller-Eberhard, 1988). Estas moléculas y los fragmentos peptídicos que resultan de la activación del sistema en reacciones en cascada interactúan entre ellos y con elementos del sistema inmunitario con el propósito de lisar células, bacterias y virus con envoltura. Cuando un microorganismo es el que activa al sistema del complemento, las moléculas del complemento forman una capa sobre la superficie del microorganismo produciendo una reacción no específica (respuesta innata), es la denominada vía alterna del complemento (Holers, 1995). Los fragmentos peptídicos que se generan opsonizan al microorganismo, a su vez, los fagocitos que poseen receptores para algunos de estos fragmentos lo endocitan. Asimismo, los péptidos tienen la propiedad de atraer a los fagocitos hacia la célula blanco (quimiotaxis), de aumentar el flujo sanguíneo al sitio de afección e incrementar la permeabilidad de los capilares y, finalmente, de lisar las membranas plasmáticas de las células extrañas. En el caso de linfocitos y de células presentadoras de antígenos también hay receptores

específicos para los fragmentos del complemento que opsonizan el complejo inmunitario (Morgan, 1992).

La activación del sistema del complemento ocurre también a través de la vía clásica en la que el mecanismo involucra la participación de un anticuerpo (complejo inmunitario). Los anticuerpos IgM e IgG de todas las subclases, exceptuando IgG4, lo activan por la vía clásica, los IgA activan el complemento por la vía alterna en tanto que los IgE no intervienen en este proceso (Cruse y Lewis, 1995).

Los pasos iniciales de la activación se acompañan del ensamblaje de los fragmentos para formar enzimas que se unen a las proteínas siguientes en la secuencia. Ambas vías llevan a la formación de un complejo multienzimático capaz de fijarse y fraccionar a una proteína clave C3 (Tsokos, 2000). La etapa final de la reacción en cadena del sistema del complemento es la formación del complejo de ataque a la membrana. La unión de C5b con C6, C7, C8 y C9 genera MAC que actúa sobre los lípidos de la bicapa de la membrana produciendo lisis celular (Shin y col., 1996).

Así, el sistema del complemento juega un papel importante en las respuestas inflamatoria e inmunitaria. Estudios *in vivo* e *in vitro* demuestran que alteraciones en el sistema del complemento se traducen en una mayor susceptibilidad al desarrollo de infecciones bacterianas y de enfermedades autoinmunitarias (Dalmaso, 1986). El lupus eritematoso sistémico se ha asociado con deficiencias

en C1 qrs, C2 o C4. En determinadas situaciones, la activación del sistema del complemento puede ser nociva. Los fragmentos que se producen en gran cantidad como C3a y C5a estimulan la quimiotaxis de los neutrófilos, la degranulación de basófilos y de células cebadas (anafilotoxinas) lo que trae como consecuencia la contracción de la musculatura lisa vascular, el aumento de la permeabilidad de los vasos y la salida de neutrófilos y de monocitos (Tsokos, 2000).



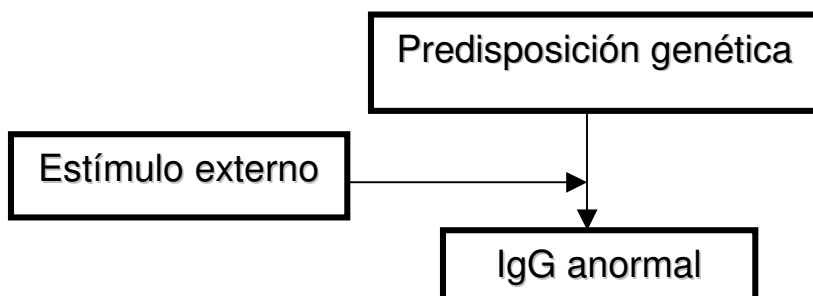
## 2.2 LA ARTRITIS REUMATOIDE

Aunque hay antecedentes que indican que la artritis reumatoide (AR) es una enfermedad que existe desde la antigüedad, la medicina oficial europea la reconoció como una nueva entidad sólo hasta el siglo XIX, describiendo que los pacientes afectados, rara vez alcanzaban los 40 años, edad en la que comúnmente se manifiesta este trastorno. A manera de profundizar en el conocimiento sobre el origen de la AR y de otras afecciones del sistema inmunitario, se han llevado a cabo estudios en restos fósiles. En esqueletos de indígenas originarios de América, habitantes de la zona litoral del río Tennessee entre 6500-450 AC, se han encontrado deformaciones semejantes a las que causa la AR. Otros esqueletos humanos hallados en México y que datan de 1400 AC-1550 DC, también presentan estas deformaciones (Rothschid y Sebes, 1992).

La artritis reumatoide (AR), término propuesto por Garrod en 1859, constituye un padecimiento inflamatorio crónico que afecta alrededor del 1% de la población mundial (Thabrew y col., 2001). La AR es la causa más común de la invalidez articular, la edad promedio en la que se puede desencadenar oscila entre 20 y 40 años y se estima que tres de cada cuatro pacientes son mujeres (Pérez, 1990). En México, los estudios epidemiológicos realizados en el IMSS señalan que esta enfermedad afecta a tres mujeres por cada hombre, principalmente de entre 35 y 45 años de edad. Cerca de un millón de mexicanos que padecen artritis reumatoide son mayores de 60 años de edad, por lo que la prescripción de

fármacos puede aumentar los riesgos en la salud en vez de brindar al paciente una mejor calidad de vida (Lozano-Ascencio y col., 1996).

En teoría, un estímulo antigénico en pacientes que son susceptibles genéticamente puede ser la señal para que los linfocitos B sinoviales produzcan IgG, inmunoglobulina que es reconocida como ajena, lo que conlleva a una respuesta inmunitaria dentro de la articulación con la consecuente producción de IgG e IgM monoméricas e IgM pentamérica, es decir, factores reumatoides (FR) que actúan como anti-inmunoglobulinas (Zvaifler, 1988). Como se sabe, la primera vía de activación del complemento se inicia cuando se forman los complejos antígeno-anticuerpo, en este caso, el IgG-FR es el que activa la vía clásica. A diferencia de la vía clásica, la activación de la vía alterna no requiere de la presencia del anticuerpo, los productos de ruptura del complemento se acumulan en la articulación y lo amplifican por estimulación de la vía alterna (Maddison y col., 1998). La activación del complemento da como consecuencia una inflamación. Los lisosomas activados y enzimas liberadas en el espacio sinovial amplifican aún mas la respuesta inflamatoria y proliferativa de la sinovial (Stites y Terr, 1993). En la figura 7 se muestra la patogenia hipotética de la AR.



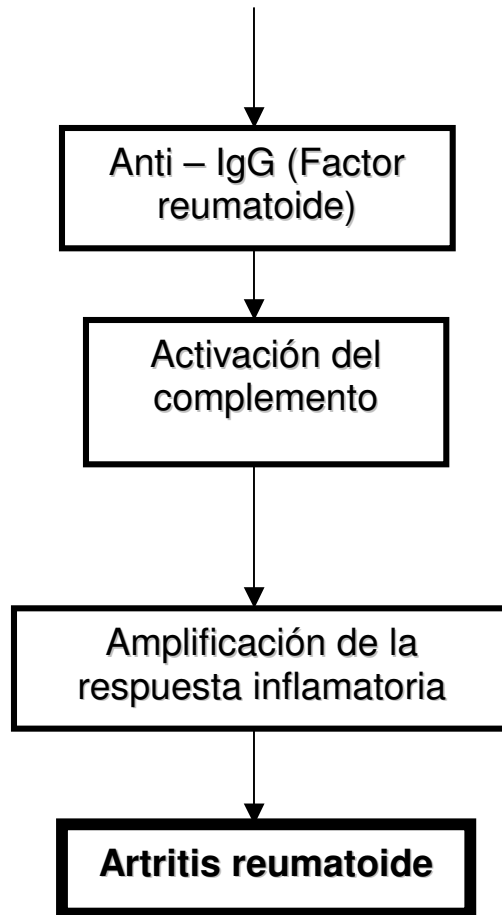


Figura 7. Muestra la patogénesis hipotética de la artritis reumatoide

En estado normal, la activación de células B produce factores reumatoides (FR), los FR son anticuerpos de la porción Fc de la IgG, éstos se encuentran elevados en los sueros de pacientes con enfermedades inflamatorias e infecciosas y se piensa que son patógenos en el caso de la artritis reumatoide. Los FR “normales” presentan características diferentes a los FR “patógenos”: En las FR normales el isotipo es IgM, tienen baja afinidad, contienen pocas mutaciones somáticas en tanto que, en los FR patógenos, el isotipo frecuentemente es IgG, son de gran afinidad y mutación (Franklin y col., 1957). El resultado de la acción biológica del FR es una respuesta inflamatoria exacerbada que desencadena el curso de la

inflamación crónica en las articulaciones diartrodiales. Por otra parte, se piensa que el proceso se inicia con la presentación del antígeno a los linfocitos T, las citosinas liberadas por los macrófagos (IL-1) ayudan al proceso de activación de los linfocitos T; en pacientes con AR se han detectado concentraciones elevadas de IL-1 en el plasma. Evidencias sustanciales indican que las células T activadas son las que dirigen el proceso (Fox, 1997).

Muchas enfermedades reumáticas con alteraciones a nivel del tejido conjuntivo tales como lupus sistémico y artritis reumatoide se vinculan en la actualidad con factores genéticos y no genéticos (cuadros infecciosos, factores estocásticos). En los pacientes con AR es característica la combinación de factores etiológicos, las manifestaciones variables y el grado de severidad del padecimiento. La AR se asocia con la autoinmunidad patogénica. En las enfermedades autoinmunitarias, el factor genético es importante; por ejemplo, una alteración en los genes que codifican MHC pueden conducir al desarrollo de padecimientos autoinmunitarios (Revielle, 1992; Vyse y Todd, 1996; Nepom, 1998; Zamani y Cassiman, 1998).

En huéspedes que son susceptibles, los virus son factores ambientales claves en el desarrollo de enfermedades autoinmunitarias como es el caso de la AR. Estos agentes virales pueden producir las formas aguda, subaguda y crónica de la enfermedad. Algunos padecimientos de las articulaciones se han asociado con infecciones virales persistentes y latentes que ocurren cuando el sistema inmunitario es incapaz de responder adecuadamente ante la presencia del patógeno, también se les asocia con un proceso de autoinmunidad inducida por

virus, con la activación de los linfocitos B, así como con la inmunodeficiencia resultado de infecciones oportunistas como las producidas por VIH (Espinoza y col., 1998). El *Parvovirus* B19, *Rubella*, herpesvirus (*Citomegalovirus*, virus Epstein-Barr, *Herpes simplex*) y Virus de la hepatitis B producen síndromes transitorios de artritis, en tanto que, el Virus de la hepatitis C, el Virus linfotrópico I de las células T del Humano o el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, producen artritis crónica (Tsokos, 2000).

## *LAS ARTICULACIONES*

Las articulaciones constituyen las áreas de contacto de las partes rígidas del esqueleto y están formadas de tejido conectivo. El tejido conectivo consta de fibroblastos, que son los responsables de la formación del cartílago; de elementos fibrilares (colágeno, fibras de reticulina y fibras elásticas), que constituyen la materia prima de tendones, ligamentos y tejidos elásticos, así como de la llamada sustancia básica, constituida por proteoglicanos y proteínas plasmáticas (Figura 8).

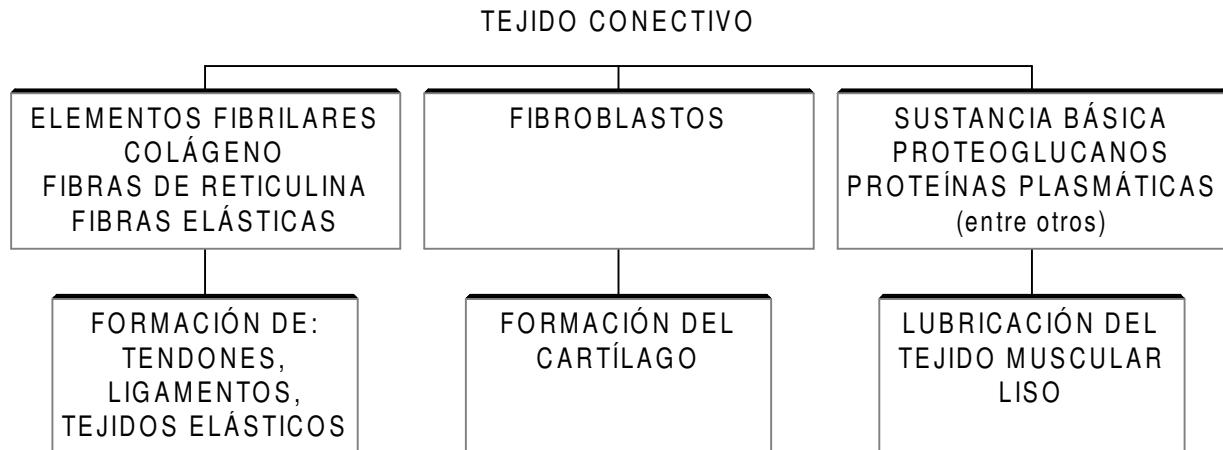


Figura 8. Los elementos celulares que conforman el tejido conectivo y sus funciones

Es en el tejido conectivo donde se manifiestan las reacciones inflamatorias como consecuencia de respuestas inmunitarias, traumatismos o por la presencia de cuerpos extraños (Schimacher y Gall, 1997).

Existen articulaciones que presentan movimiento (diartrosis) y las que no presentan movimiento alguno (sinartrosis). Las articulaciones diartrodiales se conforman de cavidad y membrana sinovial donde se producen los principales componentes del líquido sinovial, de cartílago que se caracteriza por una capa abundante de sustancia blanca y por la escasez de condrocitos (células tisulares conectivas), de cápsula y de ligamentos articulares que son fibras de colágeno elásticas y sensibles al dolor. El líquido sinovial está formado por plasma sanguíneo dializado y por hialuronato entre otros componentes (Panush, 1990), como se ilustra en la figura 9.

Las articulaciones comprometidas con mayor frecuencia en AR son: muñecas, metacarpofalángicas, interfalángicas proximales, codos, tibio tarsianas, metatarsofalángicas, rodillas y hombros. La inflamación en las interfalángicas proximales es muy característica, dando aumento de volumen simétrico en relación con el eje del dedo (dedo fusiforme), en la muñeca la inflamación se hace aparente en el aspecto dorsal, lo mismo en los codos y en las rodillas, donde se aprecia aumento global de la articulación por producción de gran cantidad de líquido sinovial (Wall y col. 1999). La rigidez matinal se manifiesta como una sensación de "entumecimiento" que aparece en el momento de despertarse el paciente o después de un reposo prolongado. Constituye un síntoma de gran valor para el diagnóstico, puesto que está presente en la gran mayoría de los pacientes (80 a 95%); debe tener más de 15 minutos de duración (Pérez, 1990). La rigidez está relacionada con el grado inflamación de la cápsula y de las estructuras periarticulares, con la trasudación fisiológica de líquido sinovial, con el aumento del contenido de líquido en estos tejidos y con la falta de acción de bomba de los músculos para vaciar la sangre al sistema venoso. Otra de las características de la AR es la simetría, de tal forma que es corriente observar que los síntomas y signos comprometen ambas muñecas, las metacarpofalángicas de ambos lados, las interfalángicas proximales también de ambos lados, las rodillas, los pies, etc. Otros signos que están presentes en la mayoría de los pacientes son la debilidad y la atrofia muscular, principalmente de los interóseos dorsales de la mano y del cuádriceps, que aparecen en forma rápida en el curso de las primeras semanas, fatiga que se manifiesta por sensación de cansancio que aparece en el transcurso

del día y aumenta súbitamente en la tarde (Maddison y col.,1998). Si la enfermedad no se controla, sigue su curso evolutivo y en los dos primeros años se presentan las lesiones articulares y tendinomusculares más severas; por lo tanto, es imperioso el diagnóstico precoz y el tratamiento temprano con el fin de evitar el progreso. Si ésto no ocurre, aparecen las deformidades características: cuello de cisne, dedo en botonera, desviación cubital, deformidades de la muñeca, pulgar en zeta, hallux valgus, dedos en martillo (Figura 10), pie plano anterior, pie reumatoideo y retracciones que se presentan sobre todo en rodillas, caderas y codos (Florey, 1972).

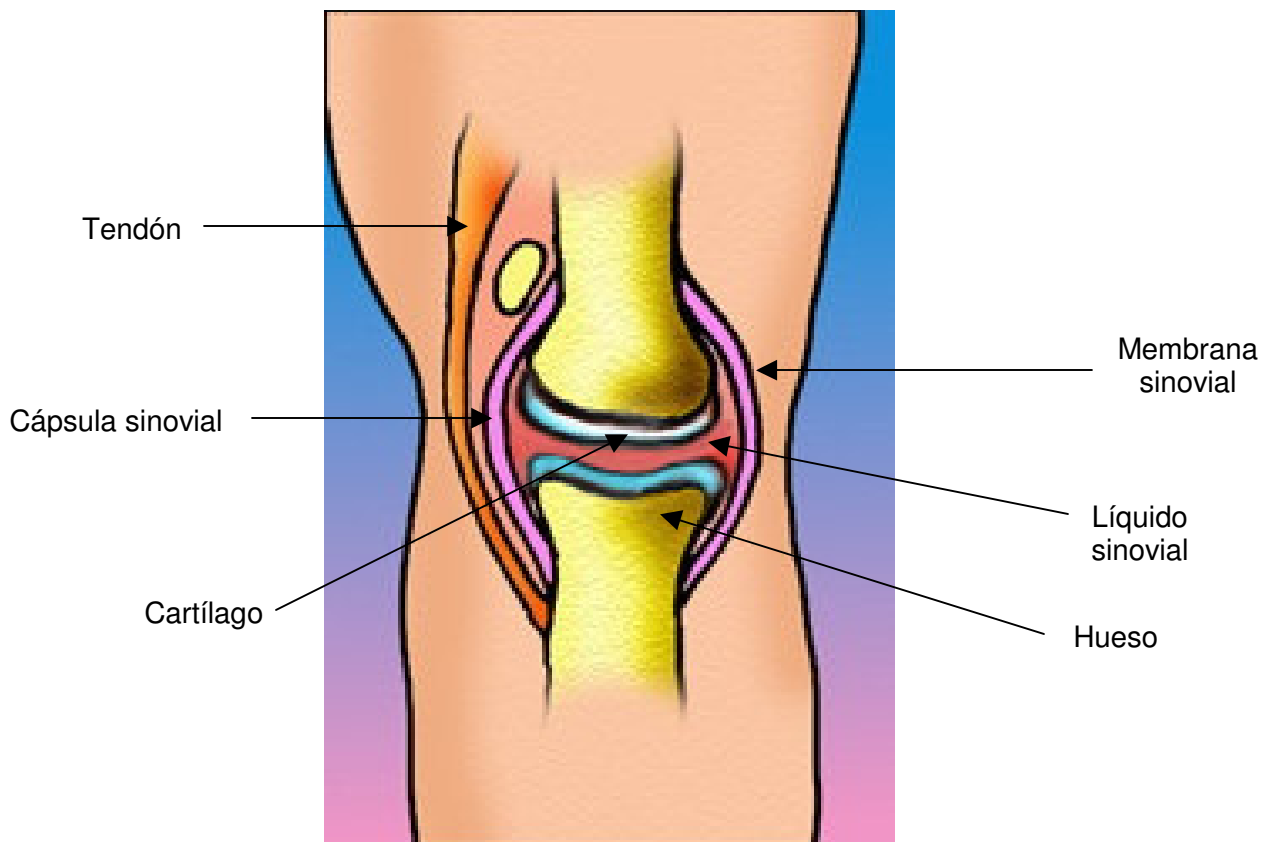
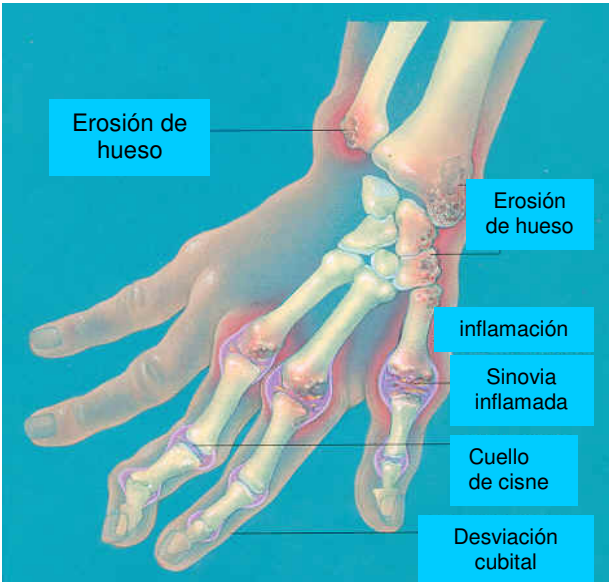




Figura 9. Representación esquemática de una articulación diartrodial típica.



10 a



10b

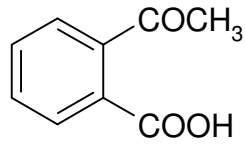
Figura 10. muestra las lesiones articulares y tendinomusculares severas producidas por la AR en las articulaciones diartrodiales de las manos (10 a); y las deformidades características: erosión de hueso, inflamación, sinovia inflamada, cuello de cisne, desviación cubital (10 b).

## 2.3 FÁRMACOS EN EL TRATAMIENTO DE LA ARTRITIS REUMATOIDE Y SUS EFECTOS SECUNDARIOS NOCIVOS

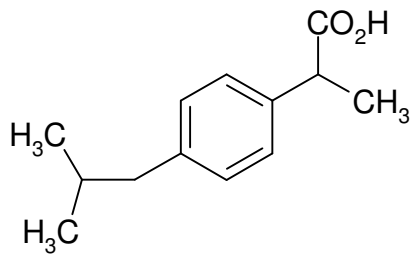
La terapia de la AR incluye tratar el dolor y la inflamación, la prevención de la destrucción articular, así como el mantenimiento de la capacidad funcional y calidad de vida de los pacientes (Schimacher y Gall, 1997). Hasta el momento, no existe un método curativo para esta enfermedad y su éxito dependerá del diagnóstico temprano y de una terapia agresiva, antes de que se produzca un deterioro funcional o daños irreversibles en las articulaciones. Inicialmente pueden usarse medicamentos antiinflamatorios; sin embargo, los pacientes con tumefacción persistente en las articulaciones son candidatos al uso de fármacos que puedan modificar el curso de la enfermedad (Mutschler y Derendorf, 1995). La terapia diseñada para las enfermedades reumáticas comprende el uso de analgésicos, corticoesteroides, antiinflamatorios no esteroidales (AINE's), medicamentos que modifican la enfermedad (DMARD's) e inmunosupresores.

### *Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)*

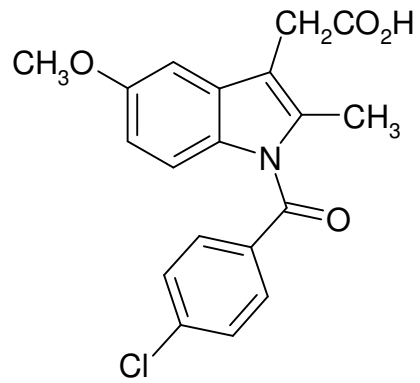
Los AINE's se emplean en el tratamiento sintomático de la enfermedad; son fármacos que tienen además efectos analgésico y antipirético (Day, 1988). Entre ellos cabe mencionar al ácido acetil salicílico (1). Ciertos AINE's en el mercado son inhibidores no específicos de las dos isoformas de la ciclooxigenasa COX-1 y COX-2 como ibuprofen e indometacina (2,3).



1

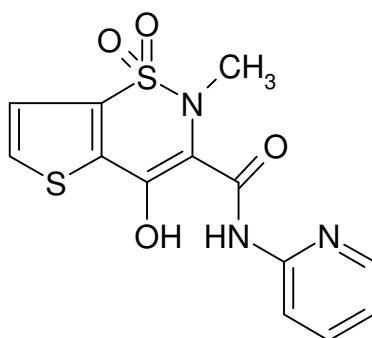


2



3

Han salido al mercado medicamentos antiinflamatorios inhibidores selectivos de COX-2, tenoxicam (4) es uno de ellos (Verbeeck, (1990).



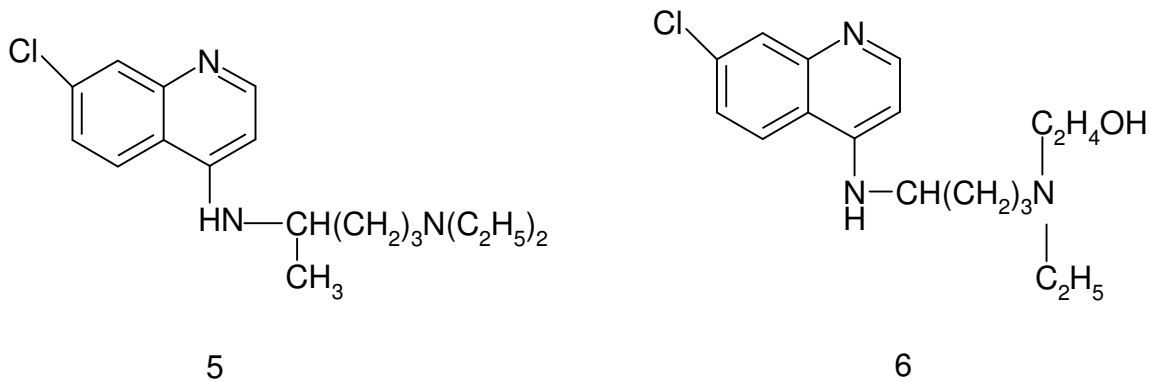
4

Una serie de AINE's son inhibidores de la lipooxigenasa, enzima que interviene en la producción de leucotrienos, éstos son importantes mediadores en el proceso inflamatorio; sin embargo, a la fecha no se ha logrado sintetizar un inhibidor selectivo de la lipooxigenasa (Lewis y col., 1990).

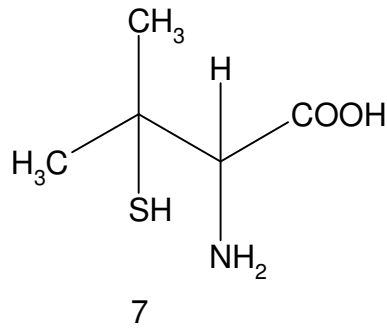
En general, los efectos secundarios indeseables que producen los AINE's son irritación y úlcera gástrica, sangrado gastrointestinal, necrosis nefronal, tinnitus, cefalea, hipersomnias, depresión y, especialmente en pacientes de edad, alucinaciones y psicosis (particularmente con indometacina). También se ha descrito trombocitopenia y agranulocitosis, incremento de la producción de transaminasas hepáticas, insuficiencia renal aguda o crónica y, menos frecuente, nefritis intersticial alérgica. Las erupciones cutáneas y otras manifestaciones de hipersensibilidad son también relativamente frecuentes (McArty y Koopman, 1993).

*Drogas que modifican la artritis reumatoide (DMARD's disease modifying antirheumatic drugs)*

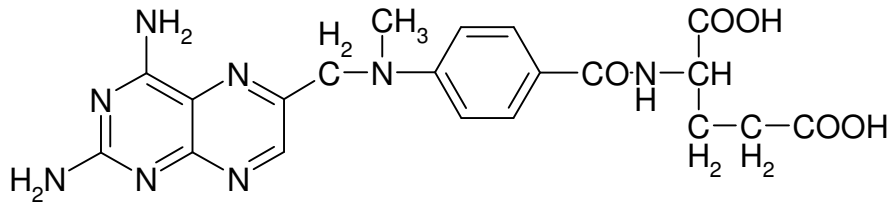
A diferencia de los AINE's que son antiinflamatorios, estos fármacos constituyen un grupo de agentes que actúan como inmunosupresores. La lista de DMARD's es extensa, entre estos fármacos se encuentran el oro, algunos antimaláricos como la cloroquina (**5**) e hidroxiclороquina (**6**), el metotrexato, la leflunomida, sulfasalazina, penicilamina, azatioprina y ciclofosfamida



La penicilamina (**7**) al igual que las sales de oro, es poco empleada debido a su acción lenta y a los efectos adversos que presenta: dermatitis, náusea, diarrea, trombocitopenia, proteinuria y, en casos raros, síndromes de autoinmunidad como lupus eritematoso sistémico, púrpura trombocitopénica y miastenia gravis (Hendel y col., 1986)

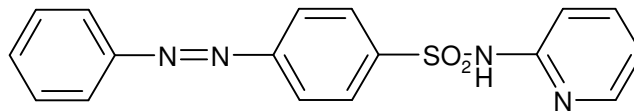


El metotrexato (**8**) es un antagonista del ácido fólico considerado como fármaco de segunda línea en el tratamiento de la AR, tiene efectos antiinflamatorios e inmunosupresores. En concentraciones altas se utiliza en la quimioterapia del coriocarcinoma, en dosis menores se usa como antiartrítico. Actúa sobre las citocinas y otros mediadores de la inflamación, inhibe la proliferación de linfocitos y de autoanticuerpos, en particular, del FR (Segal y col., 1990). Los efectos colaterales del metotrexato son dolor abdominal, náusea, vómito, dermatitis, estomatitis y, menos frecuentemente, toxicidad hepática y supresión medular. Además, produce numerosos nódulos pequeños localizados en los dedos de las extremidades y ocasionalmente, en órganos internos (pulmones y cerebro). Más recientemente se han descrito casos de linfomas de células B que contienen secuencias del virus de Epstein-Bar (Hoffmeister, 1984)



8

La sulfasalazina (**9**) es eficaz como el metotrexato y sus efectos adversos son las molestias gastrointestinales incluyendo estomatitis, náusea y diarrea, con menos frecuencia produce neutropenia y agranulocitosis (Halberg, 1984).



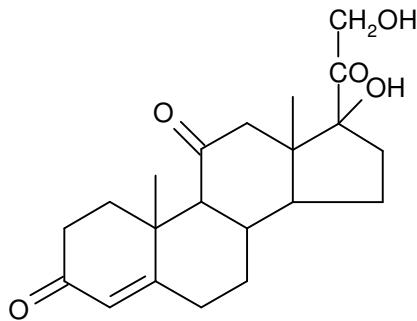
9

La ciclofosfamida es un fármaco potente alquilante útil en casos en los que se presentan lesiones extraarticulares severas como vasculitis y úlceras cutáneas, mononeuritis múltiple periférica, infartos digitales o de órganos internos o compromiso pulmonar. Puede producir efectos nocivos a nivel de la médula ósea, cistitis hemorrágica, alopecia, estomatitis, náusea, vómito, esterilidad, neoplasia de vejiga y leucemia (PLM, 1999).

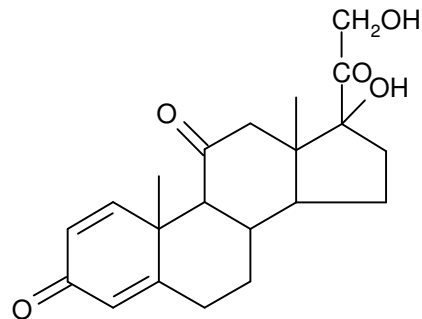
*Corticoesteroides.*



Cuando los AINE's o DMARD's no son eficaces para controlar el dolor y la inflamación, se recurre al uso de dosis bajas de corticoesteroides. Los efectos colaterales que producen estos fármacos son cataratas, osteoporosis, hirsutismo, acné y supresión del eje hipotálamo-pituitario-adrenal, a dosis elevadas, se produce osteonecrosis, psicosis, retardo en la cicatrización de heridas, atrofia cutánea, diabetes mellitus y propensión a infecciones diversas (McArty y Koopman, 1993). Entre los fármacos más frecuentemente utilizados cabe señalar la cortisona (**10**), prednisona (**11**), prednisolona, dexametasona y triamcinolona.



10

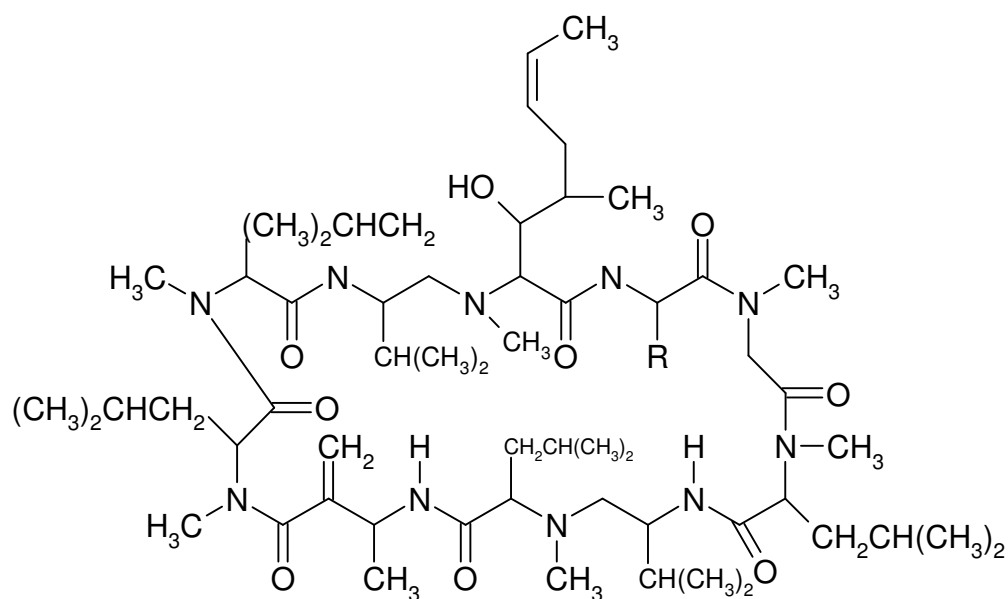


11

Los esteroides que se aplican intraarticularmente son compuestos poco solubles como la metilprednisolona , su uso produce daño articular.

### *Inmunomoduladores en ensayos experimentales*

Estos inmunomoduladores usualmente son compuestos de origen natural, algunos de estos compuestos son purificados de hongos, y poseen variable propiedad antifúngica. Actúa principalmente inhibiendo la activación de las células T, sus efectos son inespecíficos pero no citotóxicos en el sistema inmune. Este fármaco es clasificado como medicamento de moderada acción antirreumática (SAARD's). La ciclosporina es el inmunomodulador mas estudiado y se utiliza en combinación con otros inmunomoduladores o inmunosupresores para combatir la AR (12).



Algunos fármacos utilizados en los trasplantes ofrecen perspectivas en el tratamiento de la AR; en la actualidad éstos se encuentran en estudios experimentales *in vivo* (McArty y Koopman, 1993).

## **2.4 PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS EN EL TRATAMIENTO DE LA ARTRITIS REUMATOIDE**

Hasta la fecha, la terapia de la AR se ha encaminado al tratamiento sintomático de los pacientes, proceso que es prolongado por lo que los fármacos actualmente en uso representan un problema de toxicidad severa para el paciente. Estos antecedentes plantean la necesidad de encontrar nuevas alternativas, entre ellas, la búsqueda de agentes antirreumáticos de origen natural. Las plantas medicinales son una fuente de compuestos activos que es necesario explorar.

Las plantas constituyen uno de los recursos importantes de la medicina tradicional y se estima que 70-80% de la población mundial emplea este recurso para resolver los problemas prioritarios de salud (Eloff, 1998). La medicina tradicional incluye a toda serie de prácticas alternativas que se van constituyendo como dominantes; éstas vienen del pasado y van incorporando nuevos elementos a través del tiempo (Campos, 1992). Documentos como los códices “Cruz-Badiano” y “Florentino”, escritos al inicio de la conquista, contienen información valiosa sobre algunas de las plantas medicinales utilizadas en la época precolombina. (Lozoya, 1999). La práctica de la medicina tradicional mexicana ha persistido hasta nuestros días, está ligada no solo a un concepto estrictamente terapéutico, pues se vincula también con la cultura ancestral de México (Lagarria, 1966). En la actualidad, a 4000-6000 plantas se les atribuyen propiedades medicinales y son utilizadas para tratar los padecimientos mas comunes entre la población (Aguilar y col., 1994).

La industria farmacéutica ha volcado ahora su interés en las plantas medicinales por las posibilidades que ofrece este recurso para el hallazgo de nuevas estructuras biológicamente activas. Este recurso natural sigue siendo importante para la producción de fármacos; el 25% de los medicamentos prescritos en los Estados Unidos y en Canadá se producen a partir de plantas (Eloff, 1998). Para la industria farmacéutica es importante la búsqueda de fármacos potentes con menores efectos colaterales indeseables de tal manera que investigaciones en el campo de los fármacos antiinflamatorios está dirigiéndose al desarrollo de compuestos antiinflamatorios potentes, de alta tolerabilidad gastrointestinal y con menores efectos colaterales (Bani y col., 2000).

México cuenta con una gran variedad de especies medicinales que utiliza la población para tratar enfermedades o síntomas relacionados con un proceso inflamatorio, recurso que es necesario someter a una valoración experimental química-farmacológica para definir las potencialidades que representa en la búsqueda de alternativas para el control de los pacientes con artritis reumatoide. Una revisión realizada en la literatura científica cita algunas especies medicinales evaluadas como antiinflamatorios en el modelo experimental de artritis reumatoide. Los extractos hexánico y etanólico de *Sideritis javalambrensis* demostraron actividad antiinflamatoria en la fase prolongada del edema inducido con adyuvante de Freund y carragenina (De las Heras y col., 1994). Efectos similares se reportaron para los extractos metanólico y de acetato de etilo de *Eugenia jambos* (Slowing y col., 1994), de *Erythrospermum monticolum* (Recio y col., 1995), el

extracto metanólico de *Bryophyllum pinnatum* (Siddhartha y col.,1990) y un liofilizado de *Tuberaria lignosa* (Martín-Aragón y col., 1990). De este último extracto se aisló quercetina 3-O ramnósido como uno de los principios activos. La aethiopionona, un diterpeno O-naftoquinona aislada de *Salvia aethiopiensis* y dos derivados hemisintéticos presentaron actividad antiinflamatoria en el mismo modelo (Hernández-Pérez y col., 1995). En el caso del ácido mansubiónico extraído de la resina de *Commiphora incisa* y de una serie de compuestos del tipo lactonas sequiterpénicas se ha demostrado que la actividad se relaciona con el grupo  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -lactona, los estudios sobre estructura-actividad señalan que es necesaria la presencia en estos compuestos de un anillo ciclopentenona  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado o bien, un sistema ciclopentenona  $\alpha$ -epóxido (Hall y col., 1979). Se encontraron también efectos antiflogísticos del extracto acuoso de *Pentaclethra macrophylla* en el modelo ACII, en la planta se identificaron alcaloides, taninos, glucósidos saponinas y núcleos esteroidales (Akah y Nwambie, 1994). En un estudio *in vitro* en el que se determinó la actividad sobre prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>) e interleucinas (IL<sub>2</sub>) de algunos preparados de plantas de la medicina tradicional china que se usan como antirreumáticos, entre ellas *Radix paeoniae* y *Radix glycyrrhizae*, los autores encontraron que a una concentración de los preparados de 100  $\mu$ l/mL se inhibió PGE<sub>2</sub>, y a una concentración de 500  $\mu$ l/mL del mismo preparado inhibió IL<sub>2</sub> significativamente (Chou y col., 1990). Así mismo, una fracción metanólica del extracto clorofórmico de *Pluchea indica* en una concentración de 300 mg/kg presentó actividad inhibitoria del 80.7% del edema inducido con carragenina en animales adrenalectomizados (Sen y Nag,1990). Se

reporta también que el extracto etanólico de *Hippocratea excelsa* presentó actividad inhibitoria del edema inducido con formaldehído (Pérez y col.,1995), y que el extracto etanólico (v o) de las flores de *Vernonia cinerea* en el modelo ACII, tambien fue activo (Latha y col.,1998).

La Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS ha dado inicio a una línea de investigación química-farmacológica para la valoración experimental de plantas utilizadas en México como “probables antiinflamatorios”. La selección de las plantas a evaluar está basada en un criterio etnobotánico y el objetivo en una primera fase del proyecto fue llevar a cabo un rastreo farmacológico de las propiedades antiinflamatorias atribuidas a estas especies (Meckes y col., 2002; 2003). Los resultados obtenidos señalan que algunas de las plantas evaluadas poseen actividad inhibitoria sobre el edema inducido con carragenina en la región plantar de la rata (David, 2002; Nava, 2002; Meckes y col., 2002; 2003). Asimismo, un grupo de los extractos de algunas especies presentaron un efecto inhibitor de la formación del edema en la fase tardía, entre ellos, el extracto acuoso de *Chamaedora tepejilote*; el extracto metanólico de *Larrea tridentata* y el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* (cuadro 2).

EFFECTO DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES SOBRE LA FORMACIÓN DEL EDEMA INDUCIDO CON CARRAGENINA

Especie botánica	extracto	Inhibición del edema %
------------------	----------	------------------------

		1 hr	2 hr	3hr	5 hr	7 hr
<i>Chamaedora tepejilote</i>	acuoso	71± 6	75± 3	78± 1	61± 3	68± 4
<i>Larrea tridentata</i>	metanólico	63± 4	63± 5	64± 5	57± 6	64± 80
<i>Sphaeralcea angustifolia</i>	clorofórmico	79± 12	69± 10	57± 11	69± 12	75± 9

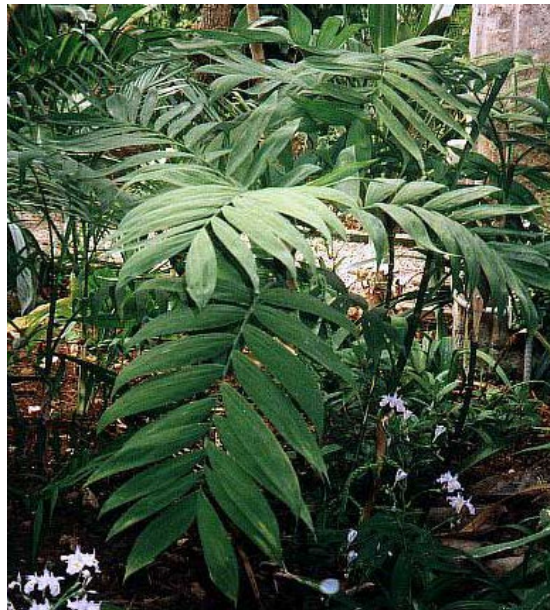
Cuadro 2. porcentaje de inhibición del edema inducido con carragenina en animales tratados con los extractos activos de algunas especies evaluadas a una concentración de 400 mg/Kg i.p. (Nava 2002; David, 2002).

Estos extractos se proponen en el presente estudio para su evaluación en el modelo de artritis reumatoide ACII. Una planta introducida en México, *Juniperus communis*, es de interés también como probable antiartrítico por presentar algunos compuestos químicos que pueden resultar con actividad antiinflamatoria (Tunon y col., 1995; Wolff y col., 1997).



## 2.5 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS SELECCIONADAS COMO PROBABLES ANTIARTRÍTICOS

*Chamaedora tepejilote* (Liebm ex Mart)



### *DESCRIPCIÓN*

La planta pertenece a la familia *Palmae* es conocida con los nombres comunes como tepejilote, palma camedor, guaya, palmito, pacaya, palmilla y palmillo dulce (Morales y Toledo, 1987; Aguilar y col., 1994). Es una palma mediana de hasta 5 m de altura; tallos solitarios, algunas veces cespitosos, erectos o decumbentes, gruesos, de 3 a 10 cm de diámetro; nidos prominentes con entrenudos de 2 a 15 cm de largo; numerosas raíces denticias; hojas pinadas de 4 a 7 y hasta 15 m de largo; vaina de 40cm de largo; pecíolo de 15 a 30 cm de largo encanalado, en posición abaxial, redondeado en la mayor parte de su longitud; raquis de 60 a 120 cm aquillado; pinnas de 12 a 25 pares alternos o subopuestos a cada lado de la

raquilla, lanceolados, oblongos. El período de floración es de enero a junio (Quero, 1994)

### *DISTRIBUCIÓN*

Se distribuye desde Veracruz en México hasta Colombia (Henderson y col., 1995), Su afinidad es esencialmente neotropical, Se ubica en el estrato bajo bosque tropical perennifolio de México, en un microclima de penumbra acentuada y de temperatura y humedad constantes durante todo el año. Es considerada como vegetación secundaria (Rzedowski 1994).

### *USOS ETNOMEDICINALES*

En México hay reportes sobre el uso medicinal que tiene esta planta para tratar pulmonía, tos y tuberculosis (Argueta y col., 1994); en estos casos se usa una decocción de las hojas (Aguilar y col., 1994).

### *INFORMACIÓN QUÍMICA Y BIOLÓGICA*

Una evaluación de actividad antimicobacteriana de *Ch. tepejilote*, muestra que el extracto hexánico presenta actividad significativa contra *Mycobacterium tuberculosis*. Se realizó el fraccionamiento químico biodirigido del extracto activo, detectándose compuestos caracterizados químicamente como escualeno (triterpeno), así como farnesol y éster metílico, que son intermediarios en la biosíntesis de los triterpenos, también se detectaron ácido ursólico y  $\beta$ -sitosterol (Álvarez, 2002).

*Larrea tridentata* Moç. & Seseé ex DC (Coville, 1893)



### *DESCRIPCIÓN*

Esta planta leñosa pertenece a la familia *Zygophyllaceae*, clasificada como matorral inerme parvifolio. Los nombres comunes de la planta son gobernadora, hediondilla, chaparral y jarilla entre otros. Es un arbusto de 60 cm a 3 m ramificado, clasificado como matorral inerme parvifolio, hojas en hojuelas, al tacto gruesas “como cuero”, cubiertas de vello y resina, las hojas están formadas por 2 foliolos unidos entre sí en la base. Los foliolos oblicuamente son ovados alanceolados o falcados, divaricados, de 4 a 15 mm de largo por 3 a 8 mm de ancho, enteros, coriáceos, resinosos, de olor penetrante, verde o verde-amarillentos. La copa tiene un volumen promedio de  $0.124 \text{ m}^3$  x arbusto; flores solitarias de 2.5 cm de diámetro, sépalos elípticos de 6 mm de largo por 4 mm de ancho, pubescentes, caedizos; pétalos de color amarillo fuerte, oblongos a lanceolados, de 1 cm de largo por 3 a 5 mm de ancho, caedizos. El fruto es

subgloboso a obovoide, de 7 mm de largo, coriáceo, con pelos blancos, sedosos, que se vuelven café-rojizos con el tiempo, 5 mericarpios con una semilla cada uno. Las semillas son café a negras, algo curvadas, de 2 a 4 mm de largo. Con contornos triangulares, en forma de "boomerang". Embrión con los cotiledones paralelos al plano longitudinal. El sistema radical superficial, poco profundo y muy extenso. Llega a ocupar casi el total del espacio que hay entre un arbusto y otro (Argueta y col., 1994).

### *DISTRIBUCIÓN*

Se ubica principalmente en las zonas áridas preferentemente de escaso relieve, sin embargo llega a desarrollarse también a altitudes mayores a 1000 msnm relieve de Norteamérica. Aparentemente es la mejor adaptada a las condiciones de aridez, pues puede vivir en las condiciones más extremas que se presentan en México, sin ser suculentas ni presentar espinas, ni tomento y siendo además perennifolia (Robles y col., 1996). En México abarca la zona árida sonorense, península de Baja California, Chihuahua, San. Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo y Oaxaca (Rzedowski, 1994).

### *USOS ETNOMEDICINALES*

En la medicina tradicional, *L. tridentata* se utiliza vía tópica para tratar heridas, golpes infecciones y reumas; la decocción vía oral se reporta para tratar problemas de riñón, padecimientos de pulmón, dolor de estómago y cálculos renales (Aguilar y col., 1994). También es empleada para tratar la esterilidad femenina, y cuando hay enfriamiento de la matriz. Así mismo, en fichas del

herbario IMSSM es reportada para tratar problemas de reumas, anemia, catarro, y diabetes. La aplicación tópica de la infusión de ramas se utiliza para tratar la mala digestión o dolor de estómago. Los fomentos calientes a base de la infusión de hojas se usan para bajar hinchazones (edemas) y para lavar heridas, granos y golpes (Ordorica, 1990). En Durango, la infusión se usa para quitar el mal olor de los pies (Niembro, 1986; Argueta y col., 1994).

### *ESTUDIOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS*

Estudios químicos han mostrado que esta planta presenta fitoestrógenos y se han caracterizado componentes fenólicos, incluyendo lignanos y flavonoides (Obermeyer y col., 1995). Gnabre y col. (1996) aislaron algunos lignanos y detectaron dos componentes anti-HIV. Así mismo, de las partes aéreas y tallos de *Larrea tridentata* se obtuvieron lignanos furanoides, (Kono y col., 1990) y se han identificado terpenos, sesquiterpenos, flavonoides, saponinas y lignanos en el aceite esencial de *L. tridentata* (Sakakibara y col., 1977). Los monoterpenos aislados de la planta fueron borneol, alcanfor, canfeno, limoneno, linaloil,  $\beta$ -ocimeno y  $\alpha$ -pineno y los sesquiterpenos:  $\alpha$ -agarofurano,  $\alpha$ -bergamoteno,  $\alpha$ -calameneno, copaeno,  $\alpha$ -curumenol,  $\beta$  y  $\gamma$ -eudesmol, farnesol, 2-rosaleno y  $\beta$ -santaleno. Además, se han detectado los flavonoides acetofenona y benzaldehído. Así mismo se han aislado 6,8-2C-glucopiranosilapigenina (vicenina-2) y el 6,8-2C- $\beta$ -Dglucopiranosilcrisoeriol. Del tallo se aislaron los triterpenoides 3  $\beta$ -(3,4-dihidroxicinamoil)-eritrodial y el 3  $\beta$ -(4-hidroxicinamoil)-eritrodial (Xue y col., 1988).

Entre los flavonoides se reportan también 3,7-eterdimetil gossipetina y de las hojas se aisló 8-hidroxi-6-metilflavonol, canferol, éter metil-3-canferol, éter dimetil-3,7-canferol, 3-ramnoglucósido de canferol, isoramentina, quercetina, 3-eter metil quercetina, 3,7,3-éter trimetilquercetina, 3-glucósido de quercetina y 3-ramnoglucósido de quercetina (Sakakibara y col., 1977). Entre los lignanos se han detectado 6,3'-di-O-dimetilisoguaiacina y didehidro-3'-dimetoxi-6-O-dimetilguaiacina (Kono y col., 1989; Kono y col., 1990), seis lignanos furanoides: la 4-epi-larreatricina; 3''-hidroxi-4-epi-larreatricina; larreatricina; 3'3''-dimetoxilarreatricina; 3,4-dihidrolarreatricina y larreatridenticina.

Así mismo al ácido nordihidroguayarático (ANDG) aislado de *L. tridentata* presenta propiedades antioxidantes (Chang, 1999). El ANDG es utilizado como fármaco de referencia en estudios farmacológicos donde se evalúan biológicamente compuestos o extractos de plantas (Della Loggia y col., 1988) y es también un agente hipoglucemiante (Luo y col., 1998; Reed y col., 1999). En estudios *in vivo* mostró actividad preventiva contra la colelitiasis en hamsters (Chang, 1999). En un estudio *in vitro*, Anesini y Pérez (1993) determinaron la actividad antimicobacteriana del extracto etanólico de las hojas de tallos de *L. tridentata*. Esta planta mostró actividad relajante en tejido uterino *in vitro*. También presentó actividad antibacteriana (Chang, 1999). El ANDG aislado de *L. tridentata* presentó actividad inhibitoria en el edema plantar inducido con carragenina en rata (David, 2002).

*Sphaeralcea angustifolia* (Cavanilles & Don var).





### *DESCRIPCIÓN*

La planta pertenece a la familia *Malvaceae*, se conoce como hierba del negro, pintapan y vara de Sn. José, entre otros. Es una hierba erecta de 50 cm a 1.5 m de altura; hojas agostas, de 5 a 12 cm, bordes ondulados, o lobuladas; flores moradas o rosadas, formando racimos angostos; fruto incluido en el cáliz.

### *DISTRIBUCIÓN*

La especie se propaga de manera silvestre en zonas de clima templado, semiseco y seco, entre los 1890 y 3900 msnm; asociada a matorral xerófilo, pastizal, bosques de pino encino, terrenos agrícolas (Argueta y col., 1994).

### *USOS ETNOMEDICINALES*

La infusión de esta planta vía oral se utiliza para limpiar la matriz y los riñones, así mismo, la infusión de la raíz se toma como emoliente (Aguilar y col., 1994). También la infusión de *S. angustifolia* combinada con manzanilla, salvia y hierbabuena para tratar la diarrea crónica en los niños. Esta planta es utilizada para tratar golpes, machacada y poniéndole unas gotas de aceite, luego frotándola en la zona afectada (Argueta y col., 1994).

Los usos medicinales que tiene la planta se relacionan con golpes, fracturas, torceduras, heridas, caída del cabello Como decocción es utilizada para tratar la hipertensión y la tos; combinada con manzanilla, salvia y hierbabuena se emplea para tratar la diarrea en los niños (Aguilar y col., 1994). En cocimiento se usa como pectoral y antiflogístico, para el tratamiento de golpes, antes de frotar se machaca la planta y se le ponen unas gotitas de aceite (Argueta y col., 1994).

#### *ESTUDIOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS*

En una revisión en la literatura científica no se encontraron antecedentes sobre estudios químicos o biológicos realizados con *Sphaeralcea angustifolia*.

En un estudio anterior, el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* mostró actividad inhibitoria en el edema plantar inducido con carragenina en rata tanto en la fase aguda como en la fase tardía (David, 2002).

*Juniperus communis* (Linnaeus)



### *DESCRIPCIÓN*

El árbol pertenece a la familia *Cupressaceae*, Los nombres comunes para esta planta en México son: nebro, sabino (Font, 1980). Es un arbusto bajo de 1 ó 2 m. de altura, algunas veces en copa de 15 m. Hojas perrenifolias, de 1.0 a 2.0 cm x 1 a 2 mm, punzantes, verdes grisáceas, en verticilos de tres piezas, con una franja blanca azulada en el haz, flores son dioicas, las masculinas axiales y ovoides amarillas, las femeninas solitarias y verdáceas, los conos masculinos cuando maduran dan lugar a gálbulos de 6 a 7 mm; con pedúnculos cortos, enmarcados, esféricos, formados por tres escamas seminíferas suculentas y soldadas, al principio verdes y en el segundo año azules negruzca.

### *DISTRIBUCIÓN*

La planta se distribuye en Europa, en las montañas del sur en Asia, noroeste de África y en América del Norte, *J. communis* es una especie introducida en México, se distribuye en los bosques de pino encino (Font, 1980; William y Thompson, 1981).

### *USOS ETNOMEDICINALES*

Los usos medicinales que se han reportado en México para *J. communis* se relacionan con problemas de las vías respiratorias, tos, pulmonía (Font, 1980). En otros países, esta planta se utiliza para tratar cáncer, diarrea, bronquitis, pulmonía, tos, tuberculosis, artritis, arteriosclerosis, gota, malestares estomacales, cálculos, verrugas, trastornos de la menopausia, enfermedades urogenitales y venéreas, entre otros (William y Thompson, 1981, Duke, 1988).

### *ESTUDIOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS*

Las propiedades antiinflamatorias de la planta han sido evaluadas en un modelo *in vitro* y se determinó la actividad inhibitoria sobre la biosíntesis de prostaglandinas y plaquetas mostrando no ser activa (Tunon y col., 1995).

De las bayas de *Juniperus excelsa* se obtuvieron el ácido isopimárico, ácido isocommúnico, (-)ent-transcommúnico, ácido sandracopimárico y el ácido 3 $\alpha$ -acetoxylabda-8(17),13(16),14-trien-19-óico (ácido juniperexcelsico), mismo que presentó una moderada actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* (Topcu y col., 1999). Una fracción aislada del extracto metanólico de *J. communis* mostró

actividad antimicobacteriana *in vitro* contra las cepas *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv y *Mycobacterium avium* (Fragoso, 2003).

## 2.6 MODELOS BIOLÓGICOS PARA EVALUACIÓN DE LA ARTRITIS REUMATOIDE

Existen diversos modelos para evaluar los procesos relacionados con la AR, es decir, procesos relacionados con padecimientos autoinmunes. Estos modelos se basan en inflamación crónica, agentes infecciosos, así como en la utilización de animales modificados genéticamente (McArty y Koopman, 1993).

Entre los modelos de inflamación se encuentra el modelo de artritis inducida por adyuvante (AA). Este modelo consiste en inyectar intradermalmente adyuvante de Freund completo que es una emulsión de aceite mineral o agua que contiene componentes bacteriales (*Mycobacterium butrycum*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium phlei*) y que produce un cuadro poliartrítico dependiente de linfocito T. En un período de 10 a 12 días se desarrolla una inflamación exacerbada en las articulaciones distales. Las ratas con artritis producida por adyuvante producen anticuerpos contra glicopéptidos de la membrana bacteriana (McArty y Koopman, 1993). Kohashi y col., (1980) encuentran que el muramil dipéptido (MDP) es un componente presente en la membrana celular de las micobacterias utilizadas en el adyuvante, y éste induce poliartritis en ratas, donde se vincula directamente la proliferación de linfocitos T<sub>H</sub> (Springer, 1990). Este modelo es el más utilizado para la evaluación de agentes antiinflamatorios e inmunomoduladores en la AR y otros padecimientos de autoinmunidad patogénica y es altamente específico y funcional en ratas (Pearson y col., 1956).

Una derivación del modelo anterior es el conocido como *Inflamación Inducida por Adyuvante-Carragenina* (*Adjuvant-Carrageenan-Induced-Inflammation ACII*), donde se induce un edema plantar con carragenina en ratas inoculadas previamente con el adyuvante de Freund completo. Los animales al ser inoculados con el adyuvante inician una respuesta inmune adaptativa exacerbada contra los inmunógenos presentes (proteínas de la membrana celular de las micobacterias). Al ser administrada la carragenina en la zona subplantar, seis días después de la inmunización con el adyuvante, el sistema inmune responde ante el agente flogístico, generando un proceso inflamatorio local bifásico. La primera fase es llamada fase aguda, que ocurre en las primeras horas de aplicada la carragenina, y la segunda fase es llamada prolongada, que se considera desde las 24 horas de aplicado el agente flogístico. La fase aguda de ACII tiene un comportamiento similar al modelo de edema agudo inducido con carragenina, mientras que la fase prolongada de ACII mantiene valores superiores en comparación con el edema agudo inducido con carragenina (Mizushima y col., 1972).

Así mismo, existen otros modelos experimentales para valorar la inflamación crónica producida por AR, tales como el modelo de artritis inducida por pared celular estreptococcica y de otras bacterias (*Lactobacillus casei*, *Eubacterium aerofaciens*, *Bifidobacterium species* y *Peptostreptococcus*), artritis inducida por colagena tipo II (CIA), artritis inducida por antígenos (AIA) (McArty y Koopman, 1993).

También se emplean modelos que utilizan agentes infecciosos, como la artritis por *Borrelia burgdorferi* (artritis lina), artritis micoplásmica, artritis por *Erysipelothrix insidiosa*, artritis y el virus de artritis-encephalitis caprina (McArty y Koopman, 1993).

También son utilizados modelos con animales transgénicos, como es el caso de la cepa HLA-B27, que fue modificada genéticamente para desarrollar AR (McArty y Koopman, 1993). En esta cepa, un fragmento de DNA del MHC humano responsable de la patogénesis de la AR en el ser humano se introdujo al DNA del animal, finalmente el gen insertado se expresa y se desarrolla la enfermedad.



### 3. OBJETIVO GENERAL

Valorar la actividad antiinflamatoria de los extractos de *Chamaedora tepejilote* (acuoso), *Larrea tridentata* (metanólico), *Sphaeralcea angustifolia* (clorofórmico) y *Juniperus communis* (metanólico) en el modelo de artritis reumatoide ACII.

#### 3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Colectar, secar y moler el material vegetal.
- Preparar los extractos a evaluar farmacológicamente.
- Estandarizar el modelo de artritis reumatoide ACII.
- Evaluar la actividad que presentan los extractos crudos en el modelo *in vivo* con la administración de una dosis única del producto.
- Evaluar la actividad que presentan los extractos crudos en el modelo *in vivo* con la administración de dosis repetidas del producto.
- Análisis de los resultados obtenidos.

## 4. HIPÓTESIS

Si las especies *Chamaedora tepejilote*, *Larrea tridentata* y *Sphaeralcea angustifolia* inhiben la fase tardía de la formación del edema inducido con carragenina, o están reportadas como probables antiartríticos, como es el caso de *Juniperus communis*, estas pueden presentar actividad antiinflamatoria en el modelo de artritis reumatoide ACII en la rata

## 5. JUSTIFICACIÓN

Entre la población mexicana es común el uso de plantas medicinales; sin embargo, del total de las especies medicinales registradas, muy pocas han sido valoradas experimentalmente a nivel químico y/o biológico. El número de plantas reportadas como antiinflamatorias es elevado y son escasos los estudios realizados que permitan corroborar las propiedades atribuidas.

La necesidad de encontrar estructuras moleculares novedosas con actividad antiinflamatoria, potentes, específicas y con menos efectos colaterales, lleva a proponer un rastreo de las plantas seleccionadas de acuerdo con un criterio etnobotánico y fitoquímico, y evaluar algunas de las especies activas como potenciales antiartríticos.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### MATERIAL VEGETAL

*Juniperus communis* se colectó en Cocoyoc, Morelos y fue identificado en el Herbario IMSSM con el No. de registro 14414. El material vegetal fue secado a la sombra a temperatura ambiente y luego se trituró.

### PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

Las partes aéreas de *Juniperus communis* se sometieron a maceración de forma consecutiva en hexano, cloroformo y metanol por 9 días a temperatura ambiente hasta extracción exhaustiva (500g / 2L y se repitió el proceso 2-3 veces). El extracto se concentró sequedad a presión reducida en rota evaporador.

Los extractos activos de *Chamaedora tepejilote* (acuoso), *Larrea tridentata* (metanólico) y *Sphaeralcea angustifolia* (clorofórmico) fueron proporcionados en La Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS. Estos extractos provienen de un material previamente identificado en el Herbario IMSSM con el No. de registro 142 para *Ch. tepejilote*; 165 y 380 para *L. tridentata*; y 14294 para *S. angustifolia* (Nava, 2002; David, 2002).

## MODELOS BIOLÓGICOS

### *Modelo ACII*

Para la realización de este estudio se utilizaron ratas de ambos sexos, de la cepa Sprague Dawley, con un peso variable de 150 a 200g. Los animales se mantuvieron con acceso libre al agua y al alimento y se dividieron en grupos tratados con el material vegetal. En el estudio se incluyeron grupos control tratados con el vehículo.

El ensayo experimental utilizado en el presente estudio se basó en el modelo de artritis reumatoide con adyuvante de Freund completo y carragenina (Adjuvant-Carrageenan-Induced Inflammation, ACII) reportado por Mizushima y col. (1972). Los animales fueron inyectados en la zona basal de la cola con 0.1 mL de adyuvante de Freund completo (SIGMA). Después de seis días se indujo el edema administrando 0.1 mL de carragenina al 1% vía subcutánea en la región subplantar de la extremidad posterior izquierda de la rata. La dinámica del edema se determinó midiendo con un pletismómetro Ugo-Basile, el volumen de líquido desplazado al introducir en la cámara la pata tratada con el agente proinflamatorio a nivel de la región articular tibio-tarsal. Las mediciones se efectuaron antes de la administración de la carragenina, luego, posterior a ésta, a las 1, 3, 4, 5, 7, 24, 48 y 72 horas después de administrar el agente flogístico.

Los extractos fueron administrados vía intraperitoneal (ip) en una dosis equivalente a 100 mg/ kg de peso, una hora antes de aplicar la carragenina. En los estudios con dosis repetidas, el extracto se administró cada 24 horas. Para disolver los extractos de *Ch. tepejilote* se utilizó agua bidestilada como vehículo, dimetilsulfóxido-H<sub>2</sub>O 2:3 (v/v) en el caso de *L. tridentata* y TWEEN 20-H<sub>2</sub>O 2:3 (v/v) para *S. angustifolia* y *J. communis*. La inhibición del edema en los grupos de animales experimentales se comparó con la de los grupos control tratados solo con el vehículo. Para el estudio se utilizó indometacina como fármaco de referencia.

## EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

La inhibición del edema se expresó como la relación porcentual entre el promedio de la diferencia del volumen medido en tiempo x en los animales del grupo experimental y en grupo control.

$$\% \text{ de inhibición} = ((\Delta V_m / (\Delta V_c) 100) - 100)$$

donde:

$\Delta V_m$  = diferencia del volumen en tiempo x para el grupo experimental.

$\Delta V_c$  = diferencia del volumen inicial en tiempo x para el grupo control.

Siendo  $\Delta V$  el gradiente entre el volumen medido en tiempo (tx); y al inicio del estudio (t0).

Al encontrar actividad antiinflamatoria en el modelo ACII del extracto clorofórmico de *S. angustifolia*, se decidió realizar un estudio posterior con el extracto activo en un modelo vía tópica, eligiéndose el de edema auricular inducido con TPA,

#### *Modelo de edema auricular inducido por aplicación tópica de TPA*

Para la realización de este estudio se utilizaron grupos de ratones de la cepa Balb/C, machos, con un peso de 25-30 g. 2.5 µg de 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) disuelto en 25 µl acetona se aplicaron vía tópica en ambas orejas de los animales. El extracto clorofórmico de *S. angustifolia* disuelto en 50µl de acetona se aplicó en la oreja izquierda inmediatamente después, a los 60 min. o a los 180 min de aplicado el TPA. A las 6 horas de aplicado el irritante, se realizó una perforación en ambas orejas y se pesó el tejido (6 mm de diámetro) correspondiente a la oreja control y con muestra, la diferencia en el peso se calculó con respecto al tejido del grupo control. Para este ensayo se utilizó un grupo control tratado con el vehículo, así como un fármaco de referencia (indometacina) en una concentración de 2.5mg / 25µl.

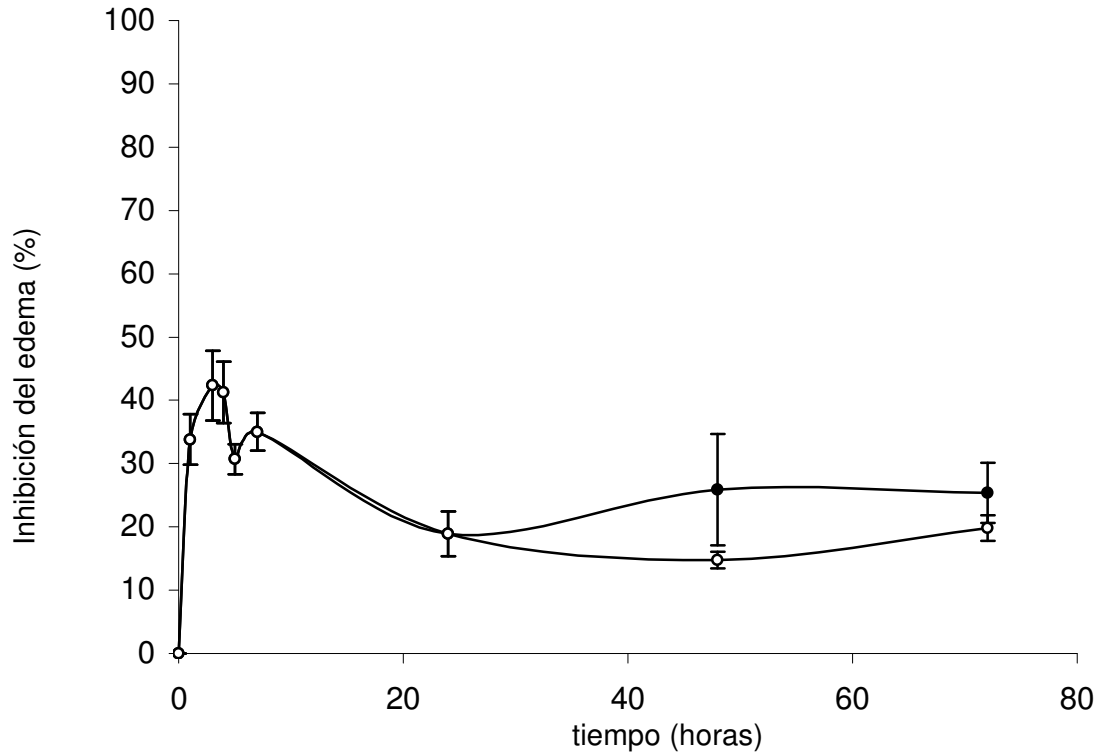
## 7. RESULTADOS

### *Efectos de los extractos en el modelo (ACII)*

Los resultados sobre los efectos que presentan las plantas evaluadas en el modelo de artritis reumatoide (ACII) en el que se induce el edema plantar con carragenina en grupos de ratas tratadas previamente con adyuvante de Freund completo indican que el extracto metanólico de *Juniperus communis* es el que presenta menor actividad. En la Gráfica 1 se observa que entre 1 y 7 hrs después de administrar 100 mg/kg (i.p.) de este extracto, el efecto inhibitor sobre la formación del edema se mantiene con valores cercanos:  $33.80 \pm 3.99$  % (1h),  $42.32 \pm 5.48$  % (3 hrs),  $41.24 \pm 4.88$  % (4hrs),  $30.69 \pm 2.38$  % (5hrs) y  $35.03 \pm 3.02$  % (7hrs). A las 24 hrs, el efecto disminuyó significativamente a un valor de  $18.80 \pm 3.55$  %.

El grupo de animales que recibió una dosis única del extracto, sostuvo un efecto inhibitor de  $25.86 \pm 8.79$ % y  $25.40 \pm 4.77$  % a las 48 y 72 hrs siguientes. A diferencia del grupo mencionado, los animales que fueron tratados con dosis repetidas de 100 mg/kg del extracto a las 24 horas, y a las 48 horas siguientes presentaron valores ligeramente menores ( $14.75 \pm 1.33$ % a las 48 horas y  $19.80 \pm 2.05$  % a las 72 horas del muestreo).





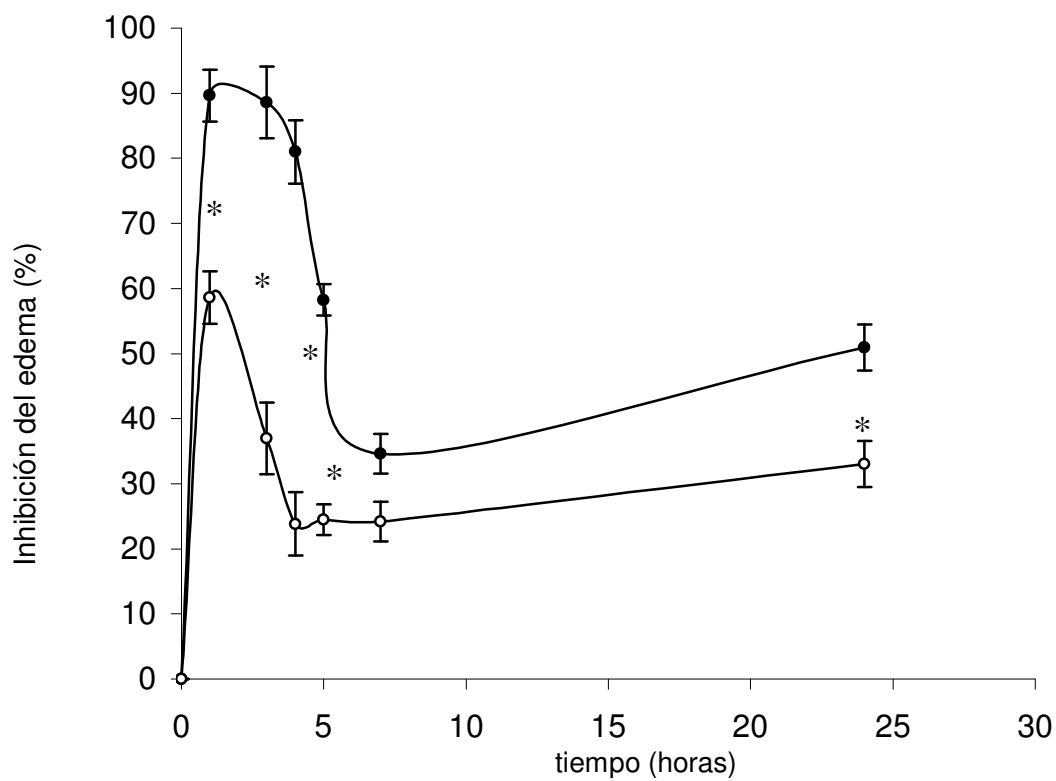
Gráfica 1. Inhibición que produce la administración i. p. del extracto metanólico de *Juniperus communis* (100 mg/kg) sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en un grupo de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradermal en la base de la cola). Los puntos en las gráficas corresponden al promedio  $\pm$  ESM de n=11 para la curva con dosis repetida a las 24 y 48 horas (●) y n=11 para la correspondiente a la dosis única (□); n= número de animales.

\* P < 0.05 de diferencia significativa entre dosis única y dosis repetidas.

Con el extracto acuoso de *Chamaedora tepejilote* se observan diferencias entre los estudios realizados con dos diferentes colectas del material vegetal (Gráfica 2). Los resultados obtenidos con el liofilizado correspondiente a la colecta del mes de Marzo presentó actividad inhibitoria sobre la formación del edema plantar desde la primera hora ( $89.65 \pm 5.52 \%$ ), el efecto se mantuvo elevado hasta las 4 hrs siguientes ( $80.98 \pm 10.19 \%$ ) y comenzó luego a disminuir de manera significativa:  $63.62 \pm 10.85 \%$  (5<sup>a</sup> hr);  $34.60 \pm 8.90 \%$  (7<sup>a</sup> hr). A las 24 hrs se registró un moderado incremento en el valor determinado ( $50.96 \pm 11.33 \%$ ). La actividad del material que se colectó en el mes de Diciembre mostró valores más bajos:  $58.60 \pm 19.30 \%$  (1<sup>a</sup> hr),  $36.97 \pm 16.48 \%$  (3<sup>er</sup> hr); entre 4 y 7 hrs, los valores se mantuvieron cercanos al 24% de inhibición. En esta serie de estudios se registró también un ligero incremento de los valores a las 24 hrs siguientes ( $33.02 \pm 12.74 \%$ ).

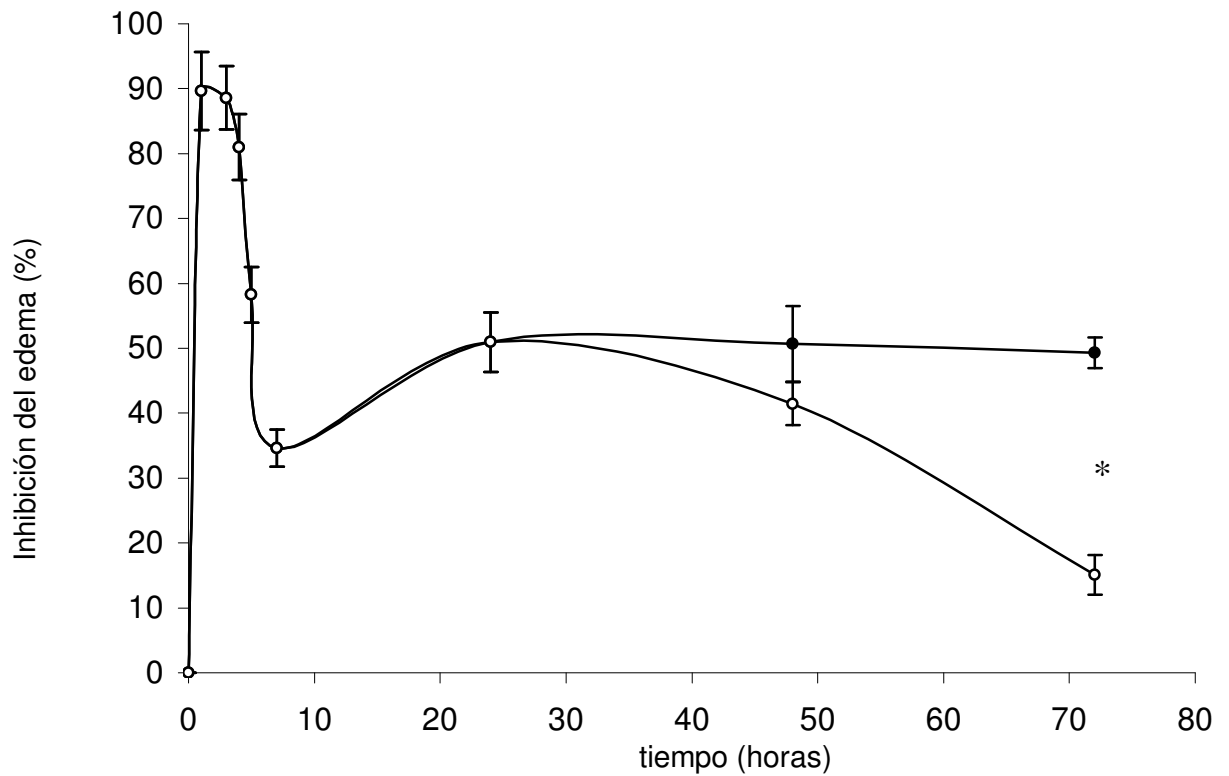
Las Gráficas 3a y 3b muestran el comportamiento sobre la formación del edema que se observa en el transcurso de las 72 horas de la administración de una dosis única y dosis repetidas del extracto acuoso liofilizado de *Chamaedora tepejilote* obtenido de las dos diferentes colectas realizadas. En dosis repetidas cada 24 horas el extracto acuoso de la colecta realizada en Marzo (Gráfica 3a) presentó un efecto máximo sostenido en la fase crónica (24, 48 y 72 horas) con valores de 50.96, 50.72 y 49.33%, mientras que cuando el extracto se administró como dosis única, los valores en la fase prolongada alcanzaron un 50.72% a las 24 horas y disminuyeron a 41.45% y 15.09% a las 48 y 72, horas respectivamente. El extracto

acuoso de la colecta realizada en Diciembre (Gráfica 3b) muestra que los valores con dosis repetidas presentaron actividad inhibitoria de 33.02% a las 24hrs, 49.95% a las 48hrs y 35.45% a las 72hrs. Para los ensayos con dosis única, los valores obtenidos a las 48 y 72hrs fueron de 15.25% y 6.77% respectivamente.



Gráfica 2. Efecto inhibitorio de los extractos acuosos (100 mg/kg i.p.) de dos diferentes colectas de *Chamaedora tepejilote* sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola). Cada punto en las gráficas corresponde al promedio  $\pm$  ESM de n= 26 para el material colectado en Marzo (●) y promedio  $\pm$  ESM de n= 13 para el material colectado en Diciembre (○); n= número de animales.

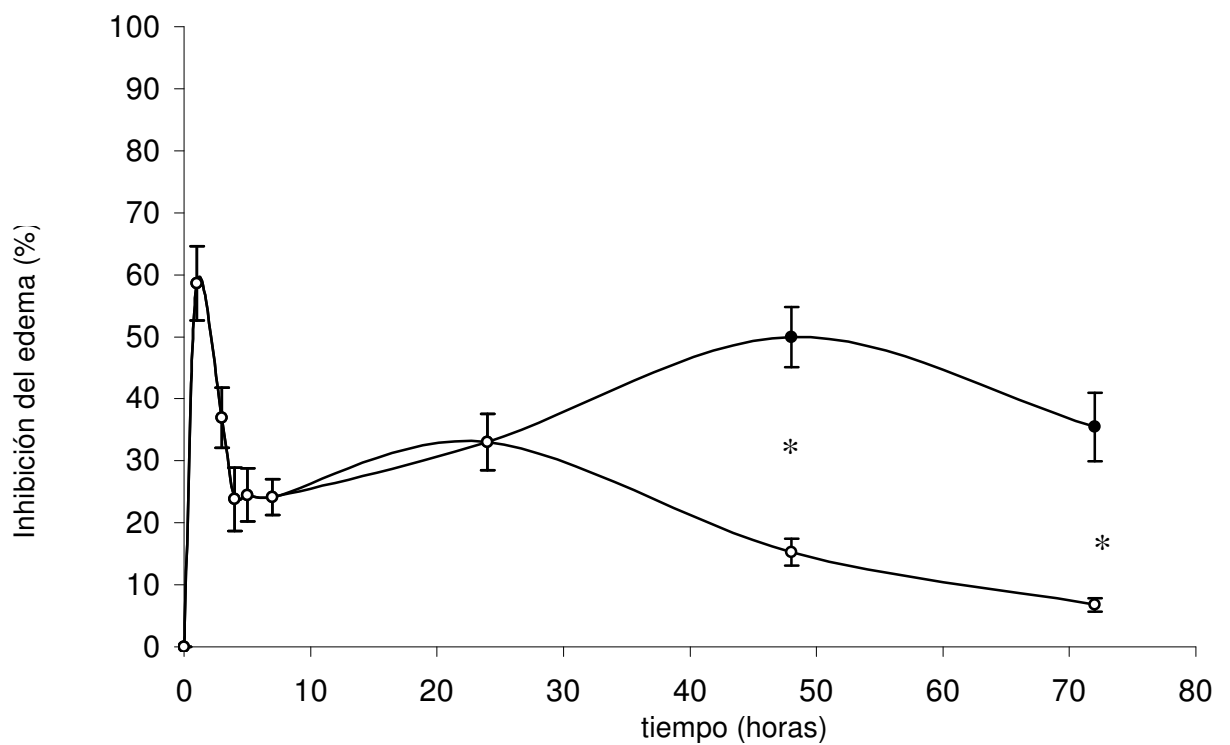
\* P < 0.05 de diferencia significativa entre colecta de Diciembre y colecta de Marzo.



Gráfica 3a. Efecto inhibitorio del extracto acuoso (100 mg/kg i.p.) de *Chamaedora tepejilote* de una colecta realizada en Marzo, sobre el edema plantar inducido con 0.1mL

de carragenina (1%) en ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola). Los puntos en las gráficas corresponden al promedio  $\pm$  ESM de  $n = 11$  para dosis repetida a las 24 y 48 horas ( $\bullet$ ) y  $n = 15$  para dosis única ( $\square$ );  $n =$  número de animales.

\*  $P < 0.05$  de diferencia significativa entre dosis única y dosis repetidas.

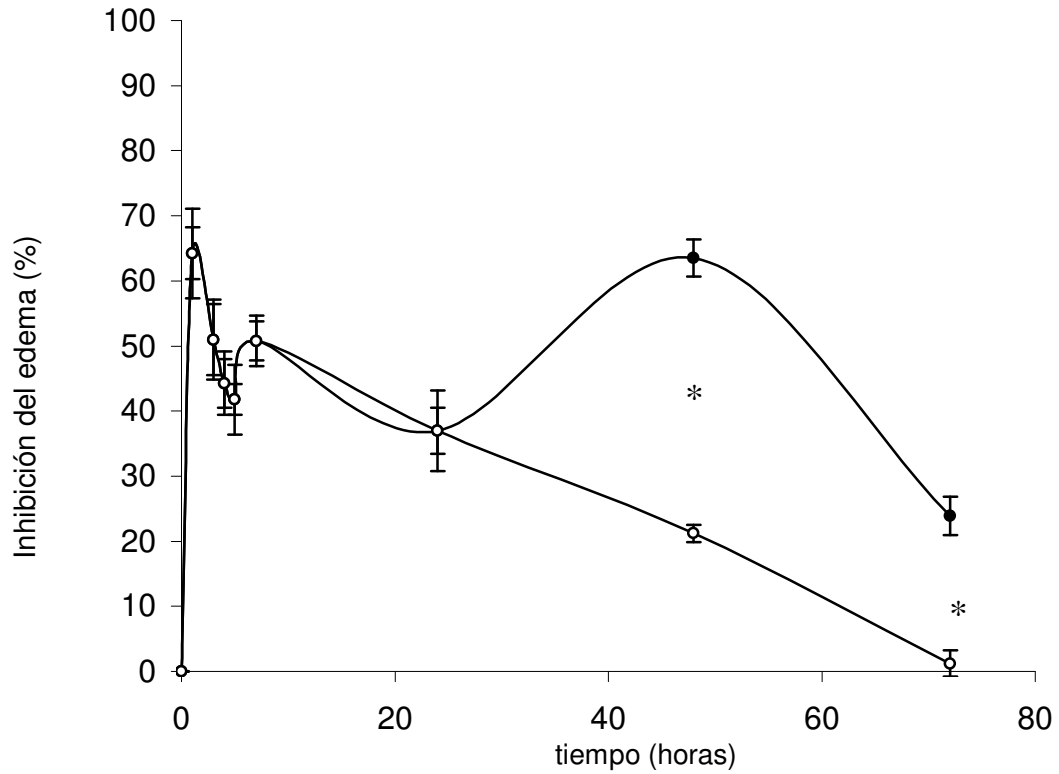


Gráfica 3b. Efecto inhibitorio del extracto acuoso (100 mg/kg i.p.) de *Chamaedora tepejilote* de una colecta realizada en Diciembre, sobre el edema plantar inducido con 0.1 mL de carragenina (1%) en ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola). Los puntos en las gráficas

corresponden al promedio  $\pm$  ESM de  $n = 6$  para dosis repetida a las 24 y 48 horas ( $\bullet$ ) y  $n = 7$  para dosis única ( $\square$ );  $n =$  número de animales.

\*  $P < 0.05$  de diferencia significativa entre dosis única y dosis repetidas.

Como se observa en la Gráfica 4, la evaluación del extracto metanólico mostró que el extracto de *Larrea tridentata* inhibe el edema plantar desde la 1<sup>a</sup> hora del muestreo ( $64.22 \pm 22.81$  %); posteriormente, el efecto comenzó a disminuir ( $50.97 \pm 10.61$  % a las 3 hrs) y se sostuvo con valores cercanos de  $44.27 \pm 11.18$  % a las 4 hrs;  $41.70 \pm 16.90$  % a las 5 hrs;  $50.78 \pm 11.59$  % a las 7 hrs y de  $36.98$  % a las 24hrs. Los estudios realizados con dosis repetidas del extracto (100 mg/kg i.p.), mostraron valores del efecto inhibitorio de  $63.52 \pm 6.49$  % a las 48 hrs, y disminuyó a  $23.89 \pm 5.82$  % a las 72 hrs. Por otra parte, el grupo de animales tratados con una sola dosis del extracto mostró valores que disminuyeron a  $22.23 \pm 3.07$  % a las 48 hrs y a  $1.22 \pm 1.22$  % a las 72 hrs.



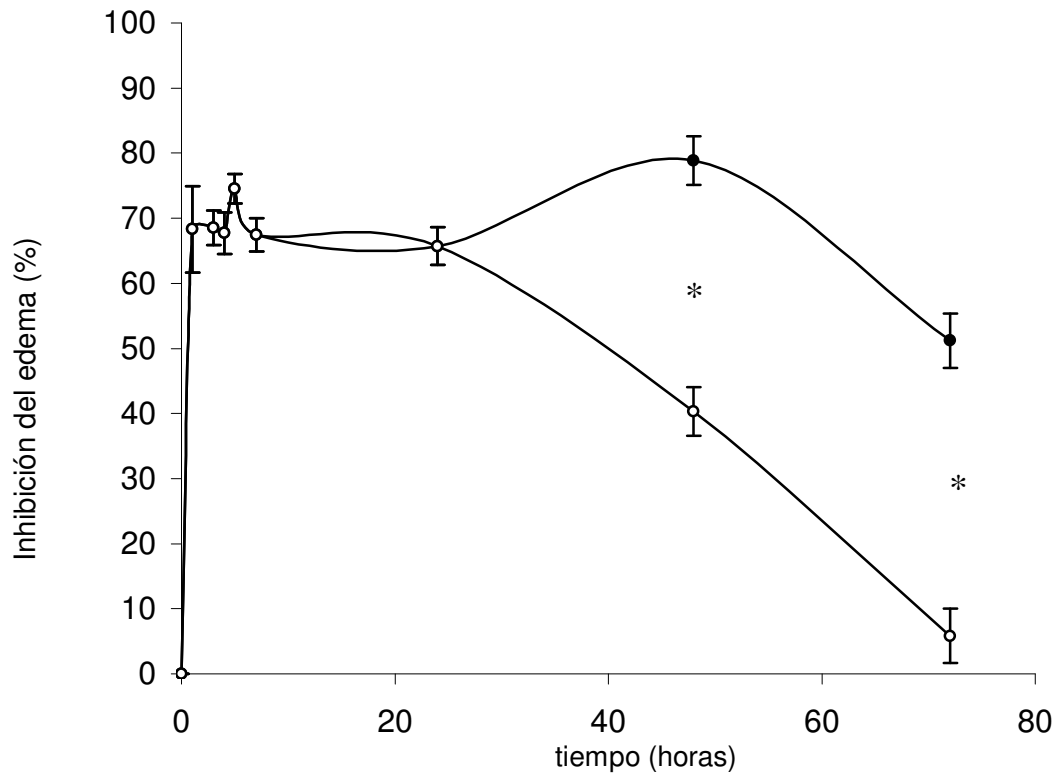
Gráfica 4. Inhibición que produce el extracto metanólico de *Larrea tridentata* (100 mg/kg) sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en un grupo de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola). Los puntos en las gráficas corresponden al promedio  $\pm$  ESM de  $n = 7$  para dosis repetida a las 24 y 48 horas (●) y  $n = 5$  para dosis única (□);  $n =$  número de animales.

\*  $P < 0.05$  de diferencia significativa entre dosis única y dosis repetidas.

De los extractos evaluados en el estudio, el clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* presentó un efecto inhibitorio sostenido ( Gráfica 5) con valores cercanos durante las primeras 7 hrs de muestreo:  $68.29 \pm 22.01$  % a la primera hora,  $68.56 \pm 11.33$  % a la 3<sup>a</sup> hr,  $67.72 \pm 12.48$  % a la 4<sup>a</sup> hr,  $74.55 \pm 8.74$  % a la 5<sup>a</sup> hr,  $65.70 \pm 10.08$  % a la 7<sup>a</sup> hr y  $65.70 \pm 2.94$  % a las 24hrs.

En el grupo de animales tratado con dosis única, el efecto fue decreciendo, la inhibición registrada a las 48 hrs fue de  $40.30 \pm 7.21$  % y de  $5.84 \pm 2.52$  % a las 72 hrs. En el grupo tratado con dosis repetidas de la planta, el efecto se mantuvo en valores entre  $78.84 \pm 11.84$  % (48 hrs) y  $51.20 \pm 10.27$  % (72 hrs), respectivamente (Gráfica 5).



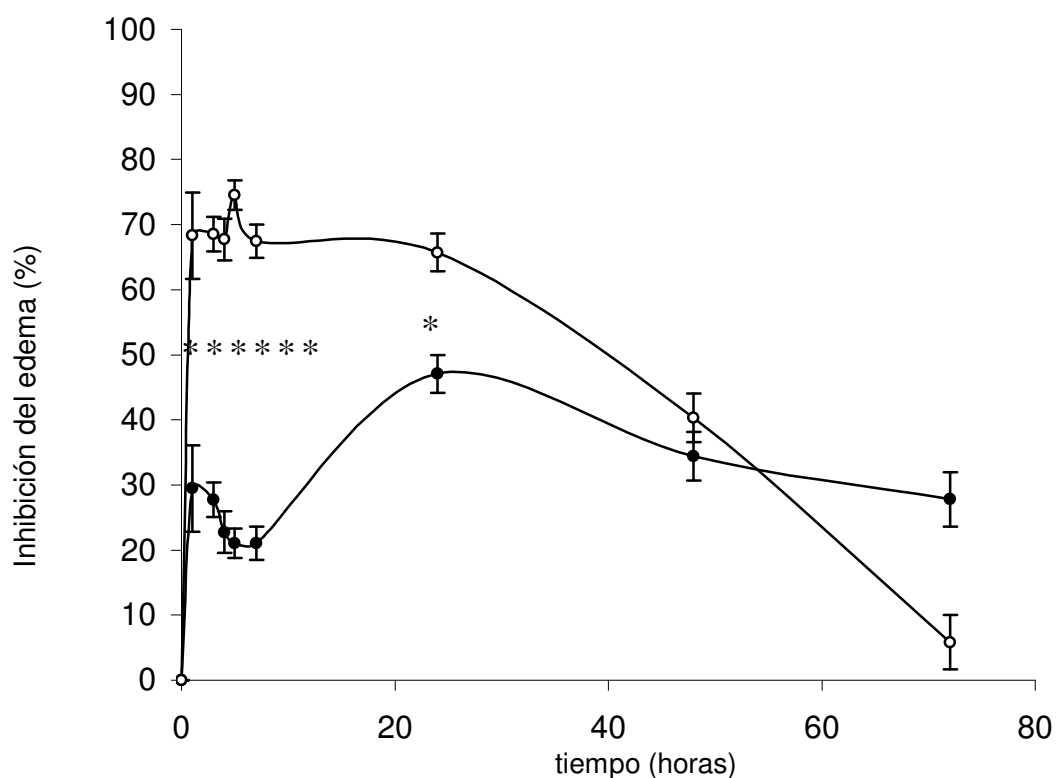


Gráfica 5. Inhibición que produce el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* (100 mg/kg) sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en un grupo de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola). Los puntos en las gráficas corresponden al promedio  $\pm$  ESM de  $n = 10$  para dosis repetida a las 24 y 48 horas (●) y  $n = 10$  para dosis única (○);  $n =$  número de animales.

\*  $P < 0.05$  de diferencia significativa entre dosis única y dosis repetidas.

En la Gráfica 6 se compara el efecto producido por la dosis única del extracto de *S. angustifolia* con el de la indometacina, encontrando que esta última presentó valores de inhibición (%) de  $29.47 \pm 4.45$  (1 hr),  $27.76 \pm 3.64$  (3 hrs),  $22.75 \pm 3.76$

(4 hrs),  $22.02 \pm 2.54$ (5 hrs),  $21.01 \pm 1.57$ (7 hrs), a las 24 hrs se produjo un incremento en la inhibición del edema con valores de  $47.06 \pm 5.22$ ; y este valor decrece posteriormente a las 48 y 72 hrs a  $34.41 \pm 3.74$  % y  $27.78 \pm 4.19$  %.

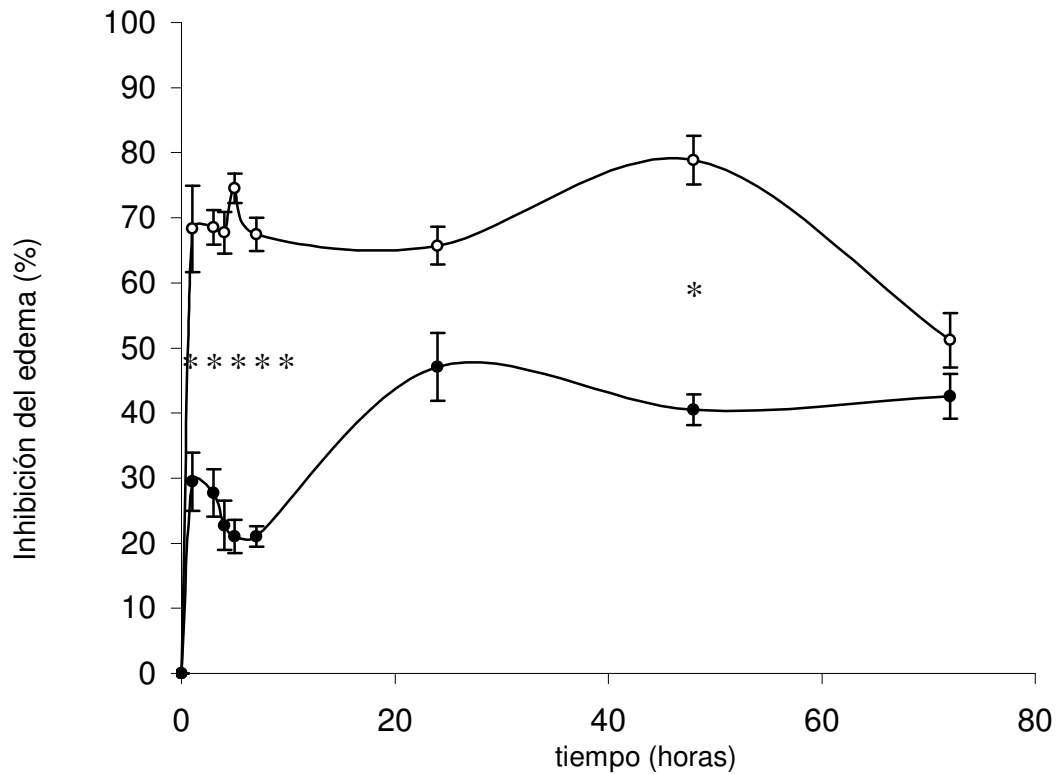


Gráfica 6. inhibición que produce el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* (100 mg/kg) y de indometacina (1.0mg/kg) en dosis única, sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en un grupo de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradermal en la base de la cola). Los puntos en las gráficas corresponden al promedio  $\pm$  ESM de  $n = 10$  para *S. angustifolia* (○) y  $n = 10$  para indometacina (●);  $n =$  número de animales.

\*  $P < 0.05$  de diferencia significativa entre *S. angustifolia* e indometacina

El efecto con dosis repetidas del extracto de *S. angustifolia* comparado con el de la indometacina se ilustra en la grafica 7. Los valores de inhibición de la referencia fueron de  $29.47 \pm 4.45$  % (1 hr),  $27.76 \pm 3.64$  % (3 hrs),  $22.75 \pm 3.76$  % (4 hrs),  $22.02 \pm 2.54$  % (5 hrs),  $21.01 \pm 1.57$  % (7 hrs),  $47.06 \pm 5.22$  % (24 hrs)

posteriormente a las 48 y 72 hrs presentó un incremento sostenido con valores de  $40.52 \pm 2.35 \%$  y  $46.89 \pm 3.43 \%$ .



Gráfica 7. Inhibición que produce el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* (100 mg/kg) y de Indometacina (1.0mg/kg) en dosis repetidas, sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en un grupo de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradermal en la base de la cola). Los puntos en las gráficas corresponden al promedio  $\pm$  ESM de  $n = 10$  para *S. angustifolia* (II) y  $n = 10$  para indometacina (●);  $n =$  número de animales.

\*  $P < 0.05$  de diferencia significativa entre *S. angustifolia* e indometacina

#### *Efectos del extracto clorofórmico de Sphaeralcea angustifolia en el modelo de edema auricular*

El peso del tejido (6 mm $\varnothing$ ) de la oreja izquierda del ratón tratada por ambos lados con 25  $\mu$ l del vehículo fue de  $6.44 \pm 0.38$  mg ( $n=69$ ). La aplicación en la oreja

derecha de 2.5  $\mu$ g TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato) disuelto en igual volumen del vehículo incrementó de manera significativa el peso del tejido a las 6 hrs después de aplicar el irritante con un valor de  $13.97 \pm 2.11$  mg (n=24). La administración tópica de 2 mg del extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* disueltos en 50  $\mu$ L de acetona, aplicado inmediatamente después del irritante, inhibió de manera significativa la formación del edema. El peso del tejido medido fue en este caso de  $8.16 \pm 0.79$  mg (n=24) y la diferencia del peso entre la oreja tratada con TPA + extracto, respecto a la oreja izquierda control con el vehículo, fue  $\Delta = 2.01 \pm 0.65$  mg (n=15). Asimismo, la aplicación tópica de 2 mg de indometacina en la oreja tratada con TPA inhibió la formación del edema auricular, siendo el peso del tejido determinado de  $7.55 \pm 1.12$  (n=18). La diferencia del peso entre ambas orejas de los ratones fue de  $1.02 \pm 0.89$  (n=18).

De los resultados obtenidos se desprende que el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* tuvo un efecto inhibitorio con valor de 77.15 % ESM = 4.25 (n=20) cuando fue aplicado el extracto inmediatamente después del irritante, 72.27% ESM = 3.21 (n.=7) se presentó a 1hr y 29.89 % ESM = 8.18 (n.=7) a las 3hrs después de aplicar el TPA (cuadro 3); n = número de animales.

<b>% Inhibición con Indometacina y <i>S. angustifolia</i></b>		
<b>Tiempo aplicación</b>	<b>Indometacina 2.5mg/Kg (vía tópica)</b>	<b><i>S. angustifolia</i> 2.5mg/Kg (vía tópica)</b>
0hr	86.54 ± 5.25	77.15 ± 4.25
1hr	86.39 ± 6.07	72.27 ± 3.21
3hr	30.72 ± 4.36	29.89 ± 8.18

Cuadro 3. Se ilustra el porcentaje de inhibición de la formación del edema producido por la aplicación vía tópica de 2.5 µg de 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) con indometacina (2.5mg/Kg vía tópica) y con el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* (2.5mg/Kg vía tópica) aplicados inmediatamente después de aplicado el irritante, a la 1hr y a las 3hrs.

\* P < 0.05 de diferencia significativa entre *S. angustifolia* e indometacina

## 8. DISCUSIÓN

Existen criterios diversos para seleccionar las especies que se investigan experimentalmente, entre ellos uno de los más utilizados en el medio académico mexicano es el etnobotánico. Como resultado de las investigaciones realizadas en las últimas tres décadas, existen importantes bancos de datos con información actualizada sobre los usos medicinales que la población da a este recurso natural tales como los herbarios IMSSM, IZTA, MEXU, XAL, entre otras instancias académicas. La presente investigación tomó como base un criterio etnobotánico para seleccionar el material vegetal sometido a la valoración farmacológica, así como los antecedentes químicos y farmacológicos reportados en la literatura científica. Los resultados obtenidos en el estudio indican que las cuatro especies mostraron actividad en el modelo de inflamación inducida por adyuvante-carragenina.

Mizushima y col. (1972) hacen mención de dos fases en el modelo ACII; la primera es la llamada aguda que se considera dentro de las primeras horas después de haber aplicado la carragenina (antes de 24 hrs), mientras que segunda es la conocida como la prolongada, considerada desde las 24 hrs en adelante.

En el estudio se utilizó la vía intraperitoneal de administración, de los extractos de las plantas evaluadas, el clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* tuvo el mayor efecto en la fase prolongada. En la literatura científica no se encontraron reportes

químicos o farmacológicos previos realizados con *Sphaeralcea angustifolia*. En este estudio se demostró que en el modelo animal de artritis reumatoide, la actividad del extracto clorofórmico inhibió el edema inducido con carragenina desde la fase aguda, sosteniéndose una actividad importante a lo largo de las 24hrs después de la aplicación de una dosis única de 100 mg/kg i.p.(alrededor de 66%). Por otro lado, se observó que dosis repetidas del extracto sostuvieron el efecto inhibitorio durante 48 hrs (alrededor de un 79%), disminuyendo los valores a las 72 horas (51%) del estudio.

El efecto determinado en la fase aguda de la respuesta inflamatoria (7 horas) podría vincularse con la participación de mediadores (aminas, leucotrienos y prostaglandinas etc.) y de células tales como los macrófagos, neutrófilos y eosinófilos o células NK; sin embargo, no se puede descartar alguna acción sobre los componentes de la respuesta adaptativa del sistema inmune (stites y Terr, 1993).

Cabe señalar que la información etnobotánica de la planta señala que en su uso como antiinflamatorio, las hojas frescas son molidas y mezcladas con aceite, para después aplicarse localmente en la zona afectada. Este antecedente es el que nos llevó a valorar el extracto activo en el modelo del edema auricular inducido con 12-O-tetradecanoílfربول-13-acetato (TPA). La actividad antiflogística del extracto demostrada por la vía que es habitualmente utilizada por la población, mostró valores significativos y cercanos a los que presentó la indometacina, estas

observaciones permiten, en parte, dar sustento a las propiedades medicinales atribuidas a *Sphaeralcea angustifolia*.

La aplicación tópica del mismo extracto sobre el edema auricular inducido con TPA mostró actividad cercana a la determinada con indometacina. La aplicación del extracto inmediatamente después del agente irritante inhibe en un 77% la formación del edema, a las 3 horas después del TPA el efecto disminuye aunque es moderado y semejante al de la indometacina (alrededor de 30%). Estos resultados indican que el extracto se absorbe vía transdermal.

En el caso de los extractos de *Chamaedora tepejilote* el correspondiente a la colecta del mes de marzo tuvo en la fase aguda una actividad mayor que la del extracto de *Sphaeralcea angustifolia* (alrededor de 90%), el efecto también fue más potente que el reportado para este extracto evaluado a una concentración de 400 mg/kg en el modelo del edema inducido sólo con carragenina (David, 2002). Estos resultados no se reprodujeron con el extracto proveniente de la colecta realizada en el mes de diciembre, en este caso la actividad fue menor y cabe la posibilidad de que la época de colecta sea un factor importante a considerar en el estudio de esta planta.

La actividad antiflogística de *Larrea tridentata* en el modelo de inflamación inducida con adyuvante-carragenina (ACII) no ha sido reportada con anterioridad. Las curvas de inhibición obtenidas con dosis única y repetidas del extracto metanólico, a una concentración de 100 mg/kg, muestran un comportamiento



diferente entre 1-3 horas, cercano entre 4-7 horas aunque con mayor efecto en el estudio realizado con una dosis única. Finalmente, en ambos estudios se produce descenso del efecto aunque más pronunciado con la dosis única, indicando con ello que la actividad ocurre en la fase aguda del proceso.

De la plantas evaluadas, *Juniperus communis*, en una dosis de 100mg/kg presentó moderada actividad antiedematosa sólo en la fase aguda. Estudios ya realizados con esta especie reportan que el extracto no tuvo actividad inhibitoria significativa en los niveles de PGE en una prueba *in vitro* (Tunon y col., 1995) lo que permite asumir que su efecto probablemente no se vincula con los metabolitos de la vía del ácido araquidónico.

Los resultados en este estudio sobre la actividad que tienen los extractos en el modelo de artritis reumatoide representan un avance en el conocimiento sobre las propiedades antiinflamatorias de cuatro especies de la flora medicinal mexicana utilizadas por la población para tratar este proceso y permiten proponer candidatos para una siguiente etapa de estudio en el que se aborden aspectos que acerquen al mecanismo de acción involucrado en el efecto.

## 9. CONCLUSIONES

- De los extractos de las cuatro especies evaluadas, *Sphaeralcea angustifolia* presenta importante actividad inhibitoria sobre edema plantar inducido con carragenina en los animales pretratados con adyuvante de Freund completo. El efecto se prolonga a la fase prolongada y en dosis repetidas del producto se alcanza un nivel de 78% de inhibición a las 48 hrs. No se observan efectos tóxicos evidentes y resulta el candidato idóneo para su evaluación química farmacológica y rastreo del o de los principios responsables de la actividad antiartrítica en el extracto.
- La aplicación del extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia* presenta importante actividad inhibitoria (77.15 %) en el modelo del edema auricular inducido con TPA.
- El extracto acuoso de *Chamaedora tepejilote* presentó la mayor actividad inhibitoria en el modelo ACII, sólo en la fase aguda del edema. Los extractos acuosos de *Chamaedora tepejilote* de diferentes colectas presentaron actividad diferente, siendo la realizada en el mes de Marzo la de mayor efecto inhibitorio en el modelo ACII.
- El extracto metanólico de *Larrea tridentata* presentó su mayor actividad inhibitoria en la fase aguda del edema.
- El extracto metanólico de *Juniperus communis* presentó el menor efecto inhibitorio tanto en fase aguda como en fase prolongada.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abad M J, Bermejo P, Carreto E, Martínez-Acitores C, Noriega B, Villar A. (1996).  
Anti-inflammatory activity of some medical plant extracts from Venezuela. J  
Ethnopharmacol 55: 63-68.
- Aguilar A, Camacho J M, Chino S, Jacquez P, López M E. (1994). Herbario  
Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información  
Etnobotánica. Catálogo. México.
- Akah P A, Nwambie A I. (1994). Plants used for rheumatic (inflammatory)  
disorders. J Ethnopharmacol 42: 179-182.
- Alvarez P V H. (2002). Estudio Químico de *Chamaedora tepejilote* Liebm ex Mart  
con Actividad Antituberculosa. Tesis licenciatura. FES Iztacala. UNAM.  
México.
- Anesini C, Pérez C. (1993). Screening of plants used in Argentine folk medicine for  
antimicrobial activity. J Ethnopharmacol 39: 119:128.
- Argueta V, Cano A, Rodarte M. (1994). Atlas de las Plantas de La Medicina  
Tradicional Mexicana. (Ed.) Zolla L. Instituto Nacional Indigenista. I-III.
- Bani S, Kaul A, Jaggi B S, Suri K A, Suri O P, Sharma O P. (2000). Anti-  
inflammatory activity of the soluble fraction of *Euphorbia royeana* latex.  
Fitoterapia 71: 655-662.
- Butterweck V. (2003). Mechanism of action of St John's wort in depresión: what is  
known?. CNS Drugs, 17: 539-62

- Campos R. (1992). La Antropología Médica en México. Tomo I. Antologías Universitarias. Instituto de Investigaciones Dr. José María Luis Mora. México, pág. 321.
- Chang H. (1999). The pharmacology of Chinese Herbs. 2<sup>a</sup> ed. CRC Pres. U.S.A.
- Chou C T, Chang S C. (1998). The Inhibitory effect of common traditional anti-rheumatic herb formulas on prostaglandin E and interleukin 2 *In Vitro*: a Comparative Study With *Tripterygium wilfordii*. J Ethnofarmacol 62: 167-171.
- Cruse J M, Lewis R E. (1995). Illustred Dictionary of Immunology. CRC Press. Florida, 327pp.
- Dalmasso A P. (1986). Complement in the pathophysiology and diagnosis of human diseases. CRC Crit Rev Clin Lab Sci 24: 123-183.
- Day E D. (1990). Advanced Immunochemistry. 2a ed. Wiley-Liss Publ. New York, U S A, 247pp.
- Day R O. (1988). Modes of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Med J Aust 148: 195-199.
- David R A D. (2002). Actividad Antiinflamatoria de los Extractos de Siete Plantas Medicinales y del Ácido Nordihidroguayarático, Compuesto Activo del Extracto de *Larrea tridentata* (DC.) Cov. Tesis licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México.
- De las Heras B, Vivas J M, Villar A. (1994). Anti-inflammatory activity of *Sideritis javalambrensis* extracts. J Ethnopharmacol 41: 15-17.
- Della Loggia Ragazzi E, Tubaro A, FascianaG, Vertua R. (1988). Anti-inflammatory activity of benzopyrones that are inhibitors of cyclo- and lipo-oxigenase.

Pharmacol Res Com 20. Supl 5:91-94.

Duke J A. (1988). Handbook of Medical Herbs. 6a ed. CRC Press. Boca  
Ratón, Florida, 548pp.

Eloff J N. (1998). Which extract should be used for the screening and isolation of  
antimicrobial components from plants?. J Ethnopharmacol 60:1-8.

Espinoza L R, Cuellar M L. (1998). Retrovirus-associated Rheumatic Syndromes,  
in Arthritis and Allied Conditions. Ed Koopman, Baltimore. 2361pp.

Florey L. (1972). Patología General. Salvat. Barcelona, España. Pag. 1049.

Font P. (1980). Plantas Medicinales. 6ª ed. Labor Ed. México. Pag. 259.

Fox D. (1997). The role of T cells in the immunopathogenesis of rheumatoid  
arthritis: new perspectives. Arthritis Rheum 40: 598-609.

Fragoso Alvarez Alejandro. (2003). Estudio Químico de *Juniperus communis* L.  
(cupressaceae) con Actividad Antimicobacteriana *in Vitro*. Tesis licenciatura.  
FES Iztacala. UNAM. México.

Franklin E C, Holman H R, Muller-Eberhard H J, Kunkel H G. (1957). An  
unusual protein component of high molecular weight in the serum of certain  
patients with rheumatoid arthritis. J Exp Med 105: 425-38.

García L, Sequí J, Vela C. (1994) . Características moleculares de los  
autoantígenos SSA/Ro, SSB/La y nRNP (Sm y U1 RNP). Inmunol 13: 85-  
101.

Gnabre J, Brady J, Clanton D, Ito Y, Dittmer J, Bates Rhuang R. (1996).  
Inhibition of human immunodeficiency virus tipe I transcription and  
replication by DNA sequence-selective plant lignans. Proc Natl Acad Sci  
U.S.A. 92: 11239-11243.

- Halberg P. (1984). Double-blind trial of levamisone, penicillamine and azathioprine in rheumatoid arthritis. *Dan Med Bull* 31: 403-409.
- Hall I H, Starnes C O, Sumida Y, Wu R Y, Wadell T G. (1979). Anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones and related compounds. *J Pharmac Sci* 68: 537:542.
- Haneey C A, Travers P. (1997). *Immunobiology: the Immune System in Health and Disease*. 3er Ed. Current Biology. London, England, 345pp.
- Hendel L, Ammitzbl T, Kreuzig. (1986). Bioavailability of D-penicillamine in a patient with gastrointestinal progressive systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol* 15 (1): 91-94.
- Henderson A, Galeano G, Bernal R. (1995). *Field Guide to the Palms of the Americas*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 104 pp.
- Hernández-Pérez M, Rabanal M C, Rodríguez B. (1995). Analgesic, anti-inflammatory, antipyretic, and hematological effects of aethopionone an O-naphthoquinone diterpenoid from *Salvia aethiopsis* root and two hemisynthetic derivatives. *Planta Med* 61: 505-509.
- Hoffmeister R T. (1983). Methotrexate therapy in rheumatoid arthritis: 15 years experience. *Am J Med* 75 (6A): 69-73.
- Holers V M. (1995). Complement, in *Principles and Practices of Clinical Immunology*. Rich R Ed, St Louis, Missouri, 435 pp.
- IMSS Jefatura de Servicios de Investigación Médica. (1994). *Compuestos de Origen Natural con Actividad Antiinflamatoria y Analgesia*. México.
- Kohashi O, Tanaka A, Kotani S, Shiba T, Kusumoto S, Yokogawa k. (1980). Arthritis inducing ability different of a synthetic adjuvant, N-acetyl muramyl

dipeptides, and bacterial disaccharide peptides related to different oil vehicles and their composition. *Infect Immune* 29: 70-75.

Kono C, Xue H, Lu Z, Ma B, Erdelmeier C, Che C, Cordell G, Soejarto D, Waller D,

Fong H. (1989). 1-aryltetralinlignans from *Larrea tridentata*. *J Nat Prod* 52: 1113-1117.

Kono C, Lu Z Z, Xue H Z, Erdelmeier C A, Meksuriyen D, Che C T, Cordell G A, Soejarto D D, Waller D P, Fong H H. (1990). Furanoid lignans from *Larrea tridentata*. *J Nat Prod* 53 (2): 396-406.

Lagarria A I. (1966). *Medicina Tradicional*. SEP-INAH. México, pág. 160.

Latha R M, Geetha T, Varalakshmi P. (1998). Effect of *Vernonia cinerea* less flower extract in adjuvant-induced arthritis. *Gen Pharmac* 31: 601-606.

Lewis R A, Austen K F, Soberman R J. (1990). Leukotrienes and other products of the 15-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N Engl J Med* 323: 615-655.

Lozano-Ascencio R, Frenk-Mora J, González-Block M. (1994). El peso de la enfermedad en adultos mayores. *Salud Publica Mex* 38: 419-429.

Lozoya X. 1999. Un Paraíso de Plantas Medicinales. *Arqueología Mexicana*. Plantas medicinales prehispánicas, VII:14-23.

Luo J, Chuang T, Cheung J, Quan J, Tsai J, Sullivan C, Hector R, Reed M, Messaros K, King S, Carlson T, Reaven G. (1998). Masoprocol (nordihydroguaiaretic acid): a new antihyperglycemic agent isolated from the creosote bush (*Larrea tridentata*). *Europ J Pharmacol* 346: 77-79.

Maddison P J, Isenberg D A, Woo P, Glass D N. (1998). *Oxford Textbook of*

- Rheumatology. 2a ed. Oxford University Press. Oxford, New York, 1225 pp.
- Margni R A. (1996). Inmunología e Inmunoquímica. 5a Ed, Panamericana. Buenos Aires, Argentina, pág 976.
- Martín-Aragón S, Benedí J, Villar A. (1990). Studies on the anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Tuberaria lignosa* extracts in experimental animals. J Pharmacol 1: 27-32.
- McArty D J, Koopman W J. (1993). Arthritis and Allied Conditions. 12 ed. Tomo 2. Lea and Febiger. U S A, 2100 pp.
- Meckes M; Nava A V, David R A D. (2002). Evaluación farmacológica de los extractos de un grupo de plantas medicinales de México con atribuidas propiedades antiinflamatorias. Ponencia. XXII Jornadas de Investigación 2002. Hospital de Pediatría del Centro Medico Nacional Siglo XXI, IMSS. México, pág. 51.
- Meckes M, David-Rivera A D, Nava-Aguilar V, Jiménez A. (2003). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw oedema. (in press).
- Mizushima Y, Tsukada W, Akimoto T. (1972). A modification of rat adjuvant arthritis for testing antirheumatic drugs. J Pharm Pharmacol 24: 781-785.
- Morales G, Toledo G. (1987). Contribución al estudio de la flora medicinal y medicina tradicional del municipio de Coxquihui, Ver. Tesis licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Morrow J, Nelson L, Watts R, Isenberg D. (1999). Autoimmune Rheumatic Disease. 2a ed. Oxford University Presss. Oxford, New York, 277 pp.
- Morgan B P. (1992). Effects of the membrane attack complex of complement on



- nucleated cells. *Curr Topics Microbiol Inmunol* 178: 115:140.
- Muller-Eberhard H J. (1988). Molecular organization and function of the complement system. *Annu Rev Biochem* 57: 321:347.
- Mutschler E, Derendorf H. (1995). *Drug Actions*. Ed Medpharm. USA, 799 pp.
- Nava A V. (2002). Actividad Antiinflamatoria de los Extractos de Siete Plantas Medicinales y  $\beta$ -sitosterol, Compuesto Identificado en una de las Fracciones Activas de *Justicia spicigera*. Tesis licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México.
- Neparstek Y, Plitz P. (1993). The rol of autoantibodies in autoimmune diseases. *Ann Rev Immunol* 11: 79-104.
- Nepom G T. (1998). Major histocompatibility complex-directed susceptibility to rheumatoid arthritis. *Adv Immunol* 68: 315-332.
- Niembro R. (1986) Árboles y Arbustos Útiles de México. Ed. Limusa, México, págs. 116-117.
- Obermeyer W R, Musser S M, Betz J M, Casey R E, Pohland A E, Page S W. (1995). Chemical studies of phytoestrogens and related compounds in dietary supplements: flax and chaparral. *Proc Soc Exp Biol Med* 208: 6-12.
- Ordorica V. (1990). Contribución al Conocimiento de la Medicina del Estado de Baja California Sur. Tesis licenciatura. ENCB, Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
- Organización Mundial de la Salud. 56<sup>a</sup> Asamblea Mundial de la Salud. 111<sup>a</sup> reunión. EB111.R12 Punto 5.7 del orden del día 24 de enero de 2003. Medicina Tradicional.

- Panush R S. (1990). Principios de Enfermedades Reumáticas. LIMUSA. México, pág. 574.
- Paul W. (1993). Fundamental Immunology. 3<sup>a</sup> ed. Raven Press. New York, U S A, 425 pp.
- Pearson C M. (1956). Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants. Proc Soc Exp Biol (NY) 91: 95-101.
- Pérez R M, Pérez S, Zavala M A, Salazar M. (1995). Anti-inflammatory activity of the bark of *Hippocratea excelsa*. J Ethnopharmacol 47: 85-90.
- Pérez T R. (1990). Principios de Patología. 3a Ed. Panamericana. México, pág. 1102.
- PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. (1999). Ed PLM. 45° ed (edición electrónica).
- Quero J H. (1994). Flora de Veracruz. Fascículo 81. *Palmae*. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Ver. University of California, Riverside, C.A., 118 pp.
- Recio M C, Giner R M, Talens A, Cubells L, Gueho J, Julien H R, Hostettman K, Rios L. (1995). Anti-inflammatory activity of flavonol glycosides from *Erythrosperm monticolum* depending on single or repeated local TPA administration. Planta Med 61: 502-504.
- Reed M, Meszaros K, entes I, Claypool M, Pinkett J, Brignetti D, Luo J, Khandwala A, Reaven G. (1999). Effect of masoprocol on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type II diabetes. Diabetología 42: 102-106.
- Revielle J D. (1992). The molecular genetics of systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. Curr Opin Rheumatol 4: 644-656.
- Robles P, Dirzo R, Raven P. (1996). Diversidad de la Flora Mexicana. Colección.

- CEMEX. México, pág. 191.
- Rokeach L, Hoch S. (1994). B-cells epitopes of Sm autoantigens. *Mol Biol Rep* 16: 165-174.
- Rooney M, Condell D, Quinlan W, Daly L, Whelan A, Feighery C. (1998).  
Analysis of the histologic variation of synovitis in rheumatoid arthritis.  
*Arthritis Rheum* 31: 956-963.
- Rothschid B M, Sebes J I. (1992). Geographic distribution of rheumatoid arthritis in ancient North America: Implications for pathogenesis. *Semin Arthritis Rheum* 22: 181-187.
- Rzedowski. (1994). *Vegetación de México*. Ed. Limusa. 6<sup>a</sup> Ed. págs. 159-178
- Sakakibara M, Marby T, Bouillant M, Chopin J. (1977). 6,8-di C-glucosyflavones from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* 16: 1113-1114.
- Segal R, Yaron M, Tartokovsky B. (1990). Methotrexate: mechanism of action in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 20:190-199.
- Sen T, Nag A K. (1990). Antiinflammatory evaluation of a *Pluchea indica* root extract. *J Ethnopharmacol* 33: 135-141.
- Singer A, Hodes R J. (1983). Mechanisms of T-cell B-cell interaction. *Annu Rev Immunol* 1: 211.
- Schimacher R, Gall E. (1997). *Rheumatoid Arthritis: an Illustrated Guide to Pathology, Diagnosis and Management*. Gomer Medical Pub. New York, United States, 105 pp.
- Shin M L, Rus H G, Nicolescu F I. (1996). Membrane attack by complement: assembly and biology of terminal complement complexes.

- Biomembranes 4: 123-149.
- Siddhartha P, Nag-Chaudhuri A K. (1990). Anti-inflammatory action of *Bryophyllum pinnatum*. *Fitoterapia* 6: 527-533.
- Slowing K E, Carreto E, Villar A. (1994). Anti-inflammatory activity of leaf extracts of *Eugenia jambos* in rats. *J Ethnopharmacol* 43: 9-11.
- Springer T A. (1990). Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346: 425-434.
- Stites D P, Terr A I. (1993). *Inmunología Básica y Clínica*. Ed El Manual Moderno. México, pág. 1055.
- Sturgess A. (1992). Recently characterized autoantibodies and their clinical significance. *Aust N Z J Med* 22: 179-189.
- Thabrew I M, Senaratha I, Samarawickrema N, Munasinghe C. (2001). Antioxidant potential of two polyherbal. Preparations used in Ayurveda for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Ethnopharmacol* 76: 285-291.
- Tonegawa S. (1983). Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 302: 275.
- Topcu G, Erenler R, Cakmak O, Johansson C B, Celik C, Chai H B, Pezzuto J M. (1999). Diterpenes from the berries of *Juniperus excelsa*. *Phytochemistry* 50 : 1195-1199.
- Tsokos G C. (2000). *Principles of Molecular Rheumatology*. Humana Press. New Jersey, 542pp.
- Tunon H, Olavsdotter C, Bohlin L. (1995). Evaluation of anti-inflammatory activity of some Swedish medicinal plants. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and PAF-induced exocytosis. *J Ethnopharmacol* 48: 61-76.
- Verbeeck R K. (1990). Pharmacokinetic drug interactions with non-steroidal anti-

- inflammatory drugs. Clin Pharmacokinet 19: 44-46.
- Vyse T J, Tood J A. (1996). Genetic analysis of autoimmune disease. Cell 85: 311-318.
- Wall P D, Melzack R. (1999). Textbook of Pain. Churchill Livingstone. 4<sup>th</sup> Ed. London, England, 1588 pp.
- Wasserman S I. (1983). Mediators of immediate hypersensitivity. J Allergy Clin Immunol 72: 101.
- William A R, Thompson D M. (1981). Guía Práctica Ilustrada de las Plantas Medicinales. Ed. Blume. España, pág. 171.
- Wolff R L, Christie W W, Coakley D. (1997). The unusual occurrence of 14-methylhexadecanoic acid in *Pinaceae* seed Oils Among Plants. Lipids 32: 971-3.
- Xue H, Lu Z, Kono C, Soejarto D, Cordell G, Fong H, Hodson W. (1988). 3 $\beta$ -(3,4-dihydroxycinnamoyl) erythrodiol and 3  $\beta$ -(4-hydroxycinnamoyl)-erythrodiol from *Larrea tridentata*. Phytochemistry 27: 233-235.
- Zamani M, Cassiman J. (1998). Reevaluation of the importance of polymorphic HLA class II alleles and amino acids in the susceptibility of individuals of different population to type I diabetes. Am J Med Genet. 76: 183-194.
- Zvaifler N. (1988). New perspectives on the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Am J Med 85 (suppl 4a): 12.

# ABREVIATURAS Y CONCEPTOS

ACII: *inflamación inducida por adyuvante-carragenina (adjuvant-carragenin induced inflammation)*

AINE: *anti-inflamatorios no esteroideos*

ANDG: *ácido nordihidroguayarético*

APC: *célula presentadora de antígeno*

AR: *artritis reumatoide*

BCDF: *linfocina del factor de diferenciación de células B*

BGDF: *linfocina del factor de crecimiento para células B*

Cadena H: *cadena polipeptídica pesada (high) de la inmunoglobulina*

Cadena L: *cadena polipeptídica ligera (low) de la inmunoglobulina*

CD: *componente de diferenciación polipeptídico presente en linfocitos T (cluster differentiation)*

COX: *ciclooxigenasa*

DMARD: *medicamentos que modifican la enfermedad (disease modify arthritis rheumatoid drugs)*

DNA: *ácido desoxiribonucleico*

EA: *enfermedad autoinmunitaria*

Epítipo: *determinante antigénico*

Fab: *fragmento captador de antígeno de la inmunoglobulina*

Fc: *fragmento cristizable de la inmunoglobulina*

FR: *factor reumatoide*

Idiotipo: *determinante antigénico de inmunoglobulina*

Idiotopo: *determinante antigénico en un idiotipo*

Ig: *inmunoglobulina*

IL: *interleucina*

IMC: *inmunidad mediada por células*

i p: *intraperitoneal*

Isotipo: *característica antigénica que determina la clase y subclase, tipo y subtipo de cadenas H y L de una inmunoglobulina*

mg: *miligramo*

µg: *microgramo*

MHC: *complejo mayor de histocompatibilidad*

mL: *mililitro*

µl: *microlitro*

NK: *células asesinas naturales (natural killers)*

PG: *prostaglandina*

Región C: *región constante carboxilo-terminal de las cadenas ligera y pesada de la inmunoglobulina*

Región V: *región variable amino-terminal de las cadenas ligera y pesada de la inmunoglobulina*

SAARD: *medicamento de moderada acción antirreumática (slow acting antirheumatic drugs)*

TCR: *receptor de célula T*

T: *linfocito T*

T<sub>C</sub>: *linfocito T citotóxico*

$T_{DH}$ : *linfocito T efector*

$T_H$ : *linfocito T colaborador (helper)*

$T_S$ : *linfocito T supresor*

TPA: 12-O-tetradecanoíforbol-13-acetato

v o: *vía oral*



# 11. ANEXOS

## PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LOS EXTRACTOS EVALUADOS

EXTRACTO	DOSIS	1 HR	3HRS	4HRS	5HRS	7HRS	24HRS	48HRS	72HRS
<i>J. communis</i>	UNICA	33.80	42.32	41.24	30.69	35.03	18.80	14.75	19.80
	REPETIDA							25.86	25.40
<i>Ch. tepejilote M</i>	UNICA	89.65	88.58	80.98	58.24	34.06	50.96	41.45	15.09*
	REPETIDA							50.72	49.33
<i>Ch. tepejilote D</i>	UNICA	58.60	36.97	2.81	24.50	24.19	33.02	15.25*	6.77*
	REPETIDA							49.95	35.45
<i>L. tridentata</i>	UNICA	64.22	50.97	44.27	41.78	50.78	36.98	21.23*	1.22*
	REPETIDA							63.52	23.89
<i>S. angustifolia</i>	UNICA	68.29	68.56	67.72	74.55	67.46	65.70	40.30*	5.84*
	REPETIDA							78.84	51.20

Cuadro A. Muestra el porcentaje de Inhibición que producen los extractos evaluados a dosis única y repetidas cada 24 horas de 100 mg/kg sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en grupos de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradermal en la base de la cola).

\* P < 0.05 de diferencia significativa entre dosis única y dosis repetidas.

**PORCENTAJE DE INHIBICIÓN CON *Ch. tepejilote***

COLECTA	1HR	3HRS	4HRS	5HRS	7HRS	24HRS
Diciembre	58.60 *	36.97 *	23.81 *	24.50 *	24.19	33.02 *
Marzo	89.65	88.58	80.98	58.24	34.06	50.96

Cuadro B. Muestra el porcentaje de Inhibición que producen los extractos de *Ch. tepejilote* de colectas realizadas en Diciembre y Marzo evaluados a una dosis de 100 mg/kg sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en grupos de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola).

\* P < 0.05 de diferencia significativa entre colecta de Diciembre y colecta de Marzo.

**PORCENTAJE DE INHIBICIÓN con *S. angustifolia* e INDOMETACINA  
DOSIS ÚNICA**

PRODUCTO	1 HR	3HRS	4HRS	5HRS	7HRS	24HRS	48HRS	72HRS
<i>S. angustifolia</i>	68.29 *	68.56 *	67.72 *	74.55 *	67.46 *	65.70 *	40.30	05.84 *
Indometacina	29.47	27.76	22.75	22.02	21.01	47.06	34.41	27.78

Cuadro C. Muestra el porcentaje de Inhibición que producen el extracto clorofórmico de *S. angustifolia* (100 mg/kg) e Indometacina (1.0 mg/kg) evaluados a una dosis de sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en grupos de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola).

\* P < 0.05 de diferencia significativa entre *S. angustifolia* e indometacina.

**PORCENTAJE DE INHIBICIÓN con *S. angustifolia* e INDOMETACINA  
DOSIS REPETIDAS**

PRODUCTO	1 HR	3HRS	4HRS	5HRS	7HRS	24HRS	48HRS	72HRS
<i>S. angustifolia</i>	68.29 *	68.56 *	67.72 *	74.55 *	67.46 *	65.70	78.84 *	51.20
Indometacina	29.47	27.76	22.75	22.02	21.01	47.06	40.52	46.89

Cuadro D. Muestra el porcentaje de Inhibición que producen el extracto clorofórmico de *S. angustifolia* (100 mg/kg) e Indometacina (1.0 mg/kg) evaluados a dosis repetidas de sobre el edema plantar inducido con 0.1mL de carragenina (1%) en grupos de ratas pretratadas 6 días antes con adyuvante de Freund completo (0.1 mL vía intradérmica en la base de la cola).

\* P < 0.05 de diferencia significativa entre *S. angustifolia* e indometacina.