



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO
DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE
ROSMARINUS OFFICINALIS Y *TAXODIUM HUEGELII*
EN RATAS WISTAR CON EL MODELO DE EDEMA
PLANTAR.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

LESLIE FERNANDA ONOFRE HURTADO

ASESORES

Dra. Azucena Ibeth Carballo Villalobos

M. en C. Marisol Rivera Huerta



Ciudad Universitaria, CD. MX. 2024



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.

DEDICATORIA.

Dedico con todo mi corazón esta tesis a mi bisabuelita Ma Licha quien partió a otro mundo con la esperanza de ver a su niña titulada; a mis abuelitos que han estado ahí para escucharme y alentarme con sus sabios consejos.

A mis padres, quienes han sido el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentando en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación. A ti mi hermanito, por motivarme a ser mejor día a día para poder ser un gran ejemplo para ti.

A Chiripa y Zwan, mis pequeñas mascotas, quienes me hacían compañía en cada desvelada, por acercarse y secar con sus lengüetazos mis lágrimas cuando quería rendirme. Por ser una inspiración para velar por el bienestar animal.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no la puedo catalogar como un trabajo fácil, se atravesó una pandemia que vino a enseñarme que soy un ser resiliente, por lo que agradezco a la vida por haberme dado la oportunidad de llegar a este momento.

Agradezco a mi universidad por haberme permitido formarme en ella, a mis asesoras:

- Dra. Azucena Ibeth Carballo Villalobos
- M. en C. Marisol Rivera Huerta

Por haberme introducido a un área de trabajo que hasta el día de hoy es una de las que más me gusta, por sus enseñanzas y dedicación a este proyecto que inició como una ilusión y que hoy es una realidad.

Gracias por el apoyo que me brindó la UNIPREC, a su directora Ma. Isabel Gracia Mora y a todos los que fueron participes de este proceso, ya sea de manera directa o indirecta, pues fueron ustedes los responsables de realizar su pequeño aporte, que el día de hoy se ve reflejado en la culminación de mi paso por la universidad.

Agradezco a las personas que invirtieron su tiempo para echarle una mirada a esta tesis, les agradezco con todo mi ser.

Agradezco a quienes no solo están cuando hay arcoíris,
sino que desde un principio bailan conmigo bajo la lluvia.

-Joel Montero

Este proyecto fue realizado gracias al Programa UNAM-PAPIIT: IN217921.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	35
RESULTADOS	42
DISCUSIÓN	50
CONCLUSIÓN	55
PERSPECTIVAS	56
REFERENCIAS	57

ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
AA	Ácido araquidónico
AAAR	Anillos de aorta aislada de la rata
ABC	Área bajo la curva
ACh	Acetilcolina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ANADEVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosín trifosfato
BK	Bradicinina
Ca ²⁺	Ion calcio
CDR	Curva dosis respuesta
Células NK	Células natural killer
CICUAL	Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio
CMC	Carboximetilcelulosa
CO ₂	Dióxido de carbono
COX	Ciclooxigenasa
COX-1	Ciclooxigenasa-1
COX-2	Ciclooxigenasa-2

DE ₅₀	Dosis efectiva 50
FCT-β	Factor de crecimiento transformante β
Fig	Figura
FNT-α	Factor de necrosis tumoral α
GC	Glucocorticoides
GLT-1	Transportador de glutamato-1
Glu	Glutamato
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
H ⁺	Ión hidrógeno
HGMB1	High mobility group box-1 (alta movilidad del grupo 1)
HSP	Heat shock proteins (proteínas de choque térmico)
i.pl.	Vía de administración intraplantar
IASP	International Association for Study of Pain (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor)
IF	Interacciones farmacológicas
IL	Interleucinas
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
IL-9	Interleucina 9
K ⁺	Ion potasio
LO	Lipooxigenasa

LT	Leucotrieno
m/s	Metro sobre segundo
Mg ²⁺	Ion magnesio
Na ⁺	Ion sodio
OMS	Organización Mundial de la Salud
ON	Óxido nítrico
p.o.	Vía de administración esofágica
PGD-2	Prostaglandina D2
PGE-2	Prostaglandina E2
PGJ-2	Prostaglandina J2
PGs	Prostaglandinas
PLA-2	Fosfolipasa A2
SN	Sistema nervioso
SNA	Sistema nervioso autónomo
SNC	Sistema nervioso central
SP	Sustancia P
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Modelos animales de dolor inflamatorio	18
Tabla 2. Clasificación taxonómica de romero (105)	25
Tabla 3. Clasificación taxonómica de ahuehuate (118)	29
Tabla 4. Partes de la planta con pruebas científicas de actividad biológica (131)	30
Tabla 5. Compuestos químicos aislados de <i>T. huegelii</i> (131)	31

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Clasificación del dolor de acuerdo con su fisiopatología y tratamiento farmacológico (12).....	5
Figura 2. Mecanismo de inflamación e inicio del sistema anterolateral. Al dañarse el tejido, se estimula la secreción de sustancias sensibilizadoras y activadoras del proceso inflamatorio, lo cual activa la terminal libre del nervio potenciando la función del dolor. El estímulo llega al ganglio de la raíz dorsal donde a nivel medular hace un cambio de lado haciendo el sistema anterolateral (27).	9
Figura 3. Sistema espinotalámico o anterolateral. El estímulo viaja a través de la neurona de primer orden llevándolo hasta la neurona de segundo orden, la cual hace entronque con la neurona de tercer orden en el tálamo, llevando el estímulo hacia la corteza somatosensorial para activar la discriminación dolorosa (28, 29).....	9
Figura 4. Transmisión sináptica. En la membrana pre sináptica hay moléculas que se acoplan a receptores específicos para cambiar la polaridad de la membrana y de esa manera sensibilizar a los nociceptores evocando un proceso doloroso (29).	10
Figura 5. Estructura química del Meloxicam (81).....	21
Figura 6. Arbusto aromático de hoja perenne y racimo de flores labiadas color violeta (98).	26
Figura 7. Árbol de <i>Rosmarinus officinalis</i> “árbol viejo de agua” (117).....	28
Figura 8. Hojas en espiral y frutos ovalados de <i>Taxodium huegelii</i> (117).....	29
Figura 9. Administración intraplantar (i.pl.) de la formalina al 1% en la extremidad posterior derecha de la rata para producir edema.	38
Figura 10. Esquema de la prueba del pletismómetro. En donde: A es la vasija volumétrica, B es el sensor y C es el dispositivo de registro.....	39
Figura 11. Diseño experimental de hembras en el modelo de edema plantar por formalina 1%. Donde carboximetilcelulosa al 1% (CMC1%); vía esofágica (p.o.); curva dosis respuesta (CDR); análisis de varianza (ANADEVA).....	40

Figura 12. Diseño experimental de machos en el modelo de edema plantar por formalina 1%. Donde carboximetilcelulosa al 1% (CMC1%); vía esofágica (p.o.); curva dosis respuesta (CDR); análisis de varianza (ANADEVA).....	41
Figura 13. Combinaciones experimentales para machos y hembras en el modelo de edema plantar por formalina 1%, donde A es la dosis en mg/kg del extracto de ahuehuate y R es el extracto de romero administrados p.o.....	41
Figura 14. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de <i>R. officinalis</i> en ratas hembra, a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{X} \pm EEM$ de 6 ratas Wistar hembras. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 316.2, 100 mg/kg y control Vs. vehículo. A los 120 minutos, # $p < 0.05$ meloxicam y control Vs. vehículo. ANADEVA de medidas repetidas por rangos seguida de Tukey.....	42
Figura 15. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de <i>T. huegelii</i> a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{X} \pm EEM$ de 6 ratas Wistar hembras. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 300 mg/kg y control Vs. vehículo. A los 120 minutos # $p < 0.05$ 1000, 562.3, 300, 100 mg/kg, meloxicam y control Vs. vehículo. ANADEVA bidireccional de medidas repetidas seguida de la prueba de Tukey.	43
Figura 16. Curvas dosis respuesta del % de efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de <i>R. officinalis</i> (romero) p.o. y <i>T. huegelii</i> (ahuehuate) p.o. en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. Cada punto representa el \bar{X} del % de efecto antiinflamatorio $\pm EEM$ de 6 ratas Wistar hembras. * $p < 0.05$ 562.3 Vs. vehículo; # $p < 0.05$ 562.3, 316.2 y 100 mg/kg Vs. vehículo. Prueba Tukey.....	44
Figura 17. Efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos etanólicos de <i>R. officinalis</i> (romero) y <i>T. huegelii</i> (ahuehuate) p.o. en comparación a su suma teórica. Donde ahuehuate (A), romero (R), teórica (T) y experimental (E). Las barras representan el	

\bar{x} del % de efecto antiinflamatorio \pm EEM de al menos 6 repeticiones. * $p < 0.05$ A50/R50T mg/kg Vs. A50/R50E mg/kg. Seguida de la prueba T- Student.....45

Figura 18. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *R. officinalis* a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{x} \pm$ EEM de 6 ratas Wistar machos. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 316.2 mg/kg y control Vs. vehículo. A los 120 minutos # $p < 0.05$ 316.2, 100, 10 mg/kg y control Vs. vehículo. ANADEVA de medidas repetidas por rangos seguida de la prueba de Tukey.....46

Figura 19. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *T. huegelii* a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{x} \pm$ EEM de 6 ratas Wistar machos. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 562.3 mg/kg y control Vs. vehículo y a los 120 minutos # $p < 0.05$ 562.3 mg/kg y control Vs. vehículo. ANADEVA bidireccional de medidas repetidas seguida de la prueba de Tukey.....47

Figura 20. Curva dosis respuesta del % de efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) p.o. y *T. huegelii* (ahuehuete) p.o. en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. Cada punto representa el \bar{x} del % de efecto antiinflamatorio \pm EEM de 6 ratas Wistar machos. # $p < 0.05$ 316.2 mg/kg Vs. vehículo, * $p < 0.05$ 562.3 mg/kg Vs. vehículo. ANADEVA de 1 vía seguida de la prueba de Tukey..48

Figura 21. Efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) / *T. huegelii* (ahuehuete) p.o. en comparación a su suma teórica. Donde ahuehuete (A), romero (R), teórica (T) y experimental (E). Las barras representan el \bar{x} del % de efecto antiinflamatorio \pm EEM de al menos 6 animales. * $p < 0.05$ A70/R30T Vs. A70/R30E. Seguida de la prueba T- Student.....49

RESUMEN

ONOFRE HURTADO LESLIE FERNANDA. Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii* en ratas Wistar con el modelo de edema plantar (bajo la dirección de: Dra. Azucena Ibeth Carballo Villalobos y M.en C. Marisol Rivera Huerta).

El dolor inflamatorio se inicia por una lesión que da lugar a un proceso inflamatorio. El tratamiento para esta patología es difícil, pues no hay un solo tratamiento que dé resolución a este proceso sin causar efectos adversos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *R. officinalis* y *T. huegelii* a diferentes dosis individuales y en combinación en un modelo de edema plantar inducido por formalina al 1%, comparándolo con meloxicam como fármaco de referencia. Se utilizaron ratas Wistar de ambos sexos y el equipo “pletismómetro” para evaluar el grado de inflamación. En hembras la administración vía esofágica del extracto etanólico de *R. officinalis* (R), produce un efecto antiinflamatorio a partir de la dosis de 100 y hasta la dosis de 562.3 mg/kg. Para el extracto de *T. huegelii* (A), se observó un efecto antiinflamatorio a la dosis de 562.3 mg/kg. Respecto a la combinación, se produjo un efecto antiinflamatorio significativo en A70/R30 y A300/R10 mg/kg, obteniendo un efecto aditivo a menor dosis administrada que las observadas en el tratamiento individual para cada extracto. Para machos, la administración del extracto etanólico de *R. officinalis* a dosis 316.2 mg/kg y *T. huegelii* a dosis 562.3 mg/kg, así como las combinaciones A10/R100 y A50R50 mg/kg disminuyeron el grado de inflamación siendo más eficaces que meloxicam. Estos hallazgos indican que el extracto etanólico de *R. officinalis* y *T. huegelii* solos y en combinación producen eficacia antiinflamatoria significativa en el tratamiento del dolor inflamatorio agudo.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1.Dolor.

Se define como “una experiencia emocional y sensorial desagradable, asociada a un daño tisular, real o potencial, descrito en términos de ese daño” según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) (1). En esta definición el término potencial indica que, si el dolor se mantiene por un tiempo prolongado, la permanencia de la noxa provocará un daño tisular efectivo (2).

Se asocia a algún tipo de lesión (hecho que no deja de ser paradójico, ya que es una respuesta ante una estimulación dañina), puede ser valorable entendiendo que los animales tienen la capacidad de sentir dolor en forma similar a los seres humanos y dependerá de cada especie (3), implicando cambios fisiológicos y de comportamiento que tienen como función disminuir o evitar el daño tisular facilitando la recuperación y mejoría (4).

1.1.1. Prevalencia.

En México, la Medicina Humana carece de estudios epidemiológicos que documenten el impacto del dolor en la población general. La mayoría de los hospitales de salud pública desconoce su prevalencia debido a que no se evalúa de manera sistemática, lo que trae como consecuencia la carencia de unidades de dolor agudo, sin embargo, si consideramos que este padecimiento afecta en promedio a 27% de la población, y que en el año 2020 nuestro país contaba con 126 millones de habitantes (5), entonces es posible que poco más de 34 millones de habitantes padezca este tipo de dolor. No obstante, se ha sugerido que este problema de salud afecta del 25 al 29% de la población general a nivel internacional (6) y que el dolor crónico aumenta con la edad, es mayor en mujeres que en hombres y en sujetos de nivel socioeconómico bajo (7). Las localizaciones más frecuentes de dolor crónico incluyen espalda baja, rodillas, cabeza y cuello (8).

En el área Veterinaria, al no poder interrogar al paciente es difícil valorarlo y tener datos precisos, por lo que es necesaria la participación activa de los dueños, tomando en cuenta las características individuales de cada paciente como la edad, (los neonatos son más sensibles al dolor); la genética (algunas razas de trabajo como el pastor alemán tienden a expresar menos los signos de dolor, en comparación a las razas miniatura); experiencias previas (si la manipulación que se va a realizar se ha realizado antes generando dolor, el

animal puede reaccionar de forma más intensa); el temperamento (puede fomentar predisposición al estrés incrementando la posibilidad de producirse dolor) (4, 9).

1.1.2. Clasificación del dolor.

Han sido muchos los intentos de clasificar los diferentes tipos de dolor, proponiéndose clasificaciones basadas en su duración, localización, etiología, curso y, finalmente, según la intensidad (Fig. 1).

1.1.2.1. Según su duración.

Puede ser considerado como dolor agudo siendo menor a 2 semanas. Suele ser la consecuencia sensorial inmediata de la activación del sistema nociceptivo, una señal de alarma disparada por los sistemas protectores del organismo. Se debe generalmente al daño tisular somático o visceral y se desarrolla con un curso temporal que sigue de cerca el proceso de reparación y cicatrización de la lesión causal. Es claramente localizado y su intensidad se relaciona con el estímulo que lo produce (10). Por otro lado, el dolor crónico persiste más allá de la curación de la lesión que lo originó y permanece una vez que dicha lesión desaparece (11), tiene una duración de más de 3 meses en forma continua o intermitente. Los pacientes presentan signos y síntomas depresivos que empeoran el cuadro clínico. No tiene una acción protectora y está especialmente influenciado por los factores psicológicos, ambientales y afectivos (12).

1.1.2.2. Según la localización.

- **Somático** Se produce por la excitación anormal de nociceptores somáticos superficiales o profundos (piel, músculoesquelético, vasos, etc.). Es un dolor localizado, punzante y que se irradia siguiendo trayectos nerviosos (13).

- **Visceral** Producido por una excitación de nociceptores viscerales (lesiones y enfermedades que afectan a órganos internos). Es un dolor difuso y pobremente localizado, se acompaña de reflejos motores y vegetativos, como náuseas y vómito. Puede irradiarse a zonas alejadas del lugar originario (13, 14).

1.1.2.3. Según el curso.

- **Continuo** Persistente a lo largo del día y no desaparece.
- **Irruptivo** Aumento transitorio del dolor en pacientes bien controlados con dolor de fondo estable (13).

1.1.2.4. Según la intensidad.

- **Leve** Puede realizar actividades habituales.
- **Moderado** Interfiere con las actividades habituales.
- **Severo** Interfiere con el descanso (13).

1.1.2.5. Según su etiología.

- **Psicógeno** Es un dolor no orgánico, que surge como consecuencia de padecimientos de origen psíquico (15).

- **Nociceptivo** También denominado dolor normal, es aquella forma de dolor que aparece en todos los individuos como consecuencia de la aplicación de estímulos que producen daño o lesión a órganos somáticos o viscerales. El dolor nociceptivo es la consecuencia de la activación del sistema neurofisiológico constituido por nociceptores periféricos, vías centrales de la sensación dolorosa y, finalmente corteza cerebral. La intensidad y duración de las sensaciones del dolor nociceptivo dependen crucialmente de la modulación de las señales de lesión tisular a lo largo de la vía nociceptiva, pero el dolor nociceptivo se debe siempre a la activación de un sistema sensorial específico encargado de su transmisión (10).

- **Inflamatorio** El dolor nociceptivo de tipo inflamatorio es el desencadenado por lesiones tisulares que dan lugar a una respuesta inflamatoria que, a su vez, estimula directamente a los nociceptores. En la forma aguda es causado por traumas (heridas, fracturas, roturas fibrilares, etc.), presiones intensas (isquemia), quemaduras, frío intenso (vasoconstricción) e infecciones, y en la forma crónica por patologías inflamatorias o autoinmunes (artritis reumatoide, lupus, etc.).

El dolor inflamatorio suele ser continuo y permanecer durante el reposo, produce rigidez de reposo mayor a 45 minutos y se detectan claros signos de inflamación (tumor, rubor y calor) (16). En los tejidos lesionados se liberan múltiples sustancias; algunas de estas sustancias sensibilizan a los nociceptores, mientras que otras los activan directamente. Las prostaglandinas (PGs), los leucotrienos (LT) y la Sustancia P (SP) son sensibilizadoras. Los iones de potasio (K^+), la serotonina (5-HT), la bradicinina (BK) y la histamina son activadores. Asimismo, la lesión tisular da origen a cambios vasculares locales como la triple respuesta de Lewis, que se manifiesta por una vasoconstricción refleja en la piel del

área afectada (línea blanca), seguida en pocos segundos por una vasodilatación compensatoria (línea roja) y, posteriormente, extravasación de líquidos y edema local (14). El dolor inflamatorio no sirve tanto como una alarma, sino más bien como un recordatorio de una lesión reciente, desalentando las actividades que corren el riesgo de una nueva lesión para que la recuperación pueda continuar rápidamente (17).

- **Neuropático** También llamado anormal o patológico, aparece en una minoría de individuos, está producido por estímulo directo del sistema nervioso central (SNC) o por lesión de vías nerviosas periféricas. Se describe como punzante, quemante, acompañado de parestesias y disestesias, hiperalgesia, hiperestesia y alodinia (13).

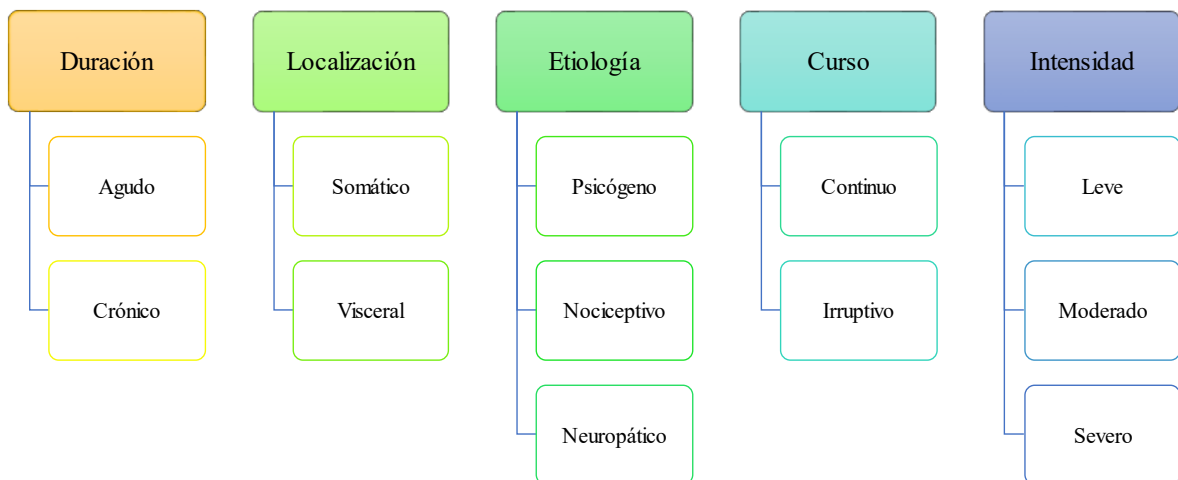


Figura 1. Clasificación del dolor de acuerdo con su fisiopatología y tratamiento farmacológico (12).

1.1.3. Sensibilidad.

Los receptores sensoriales son los encargados de convertir la energía del estímulo en una señal nerviosa, en la que está codificada la información y las características del estímulo. El estímulo normal y apropiado para un receptor es el que presenta el umbral más bajo con capacidad excitatoria. A este estímulo se le llama "adecuado o específico" e implica la mínima intensidad necesaria para que pueda ser detectado. A continuación, se transmite desde el receptor, mediante una serie de neuronas y relevos sinápticos, hasta las regiones cerebrales específicas, denominándose proceso sensorial.

La infraestructura del sistema nervioso (SN) encargada de sustentar este proceso se llama sistema sensorial y consiste en el conjunto de neuronas y sinapsis excitatorias e inhibitorias

que van desde la periferia (superficie corporal – órgano – receptor) hasta los niveles más altos del SNC (18, 19).

1.1.4. Nocicepción.

Un término frecuentemente utilizado como sinónimo de dolor, aunque ciertamente diferente, representa los mecanismos fisiológicos asociados con la recepción de señales en el SNC, generadas tras la activación de los receptores sensoriales específicos, o nociceptores, por los estímulos capaces de producir daño tisular. Aunque normalmente la percepción del dolor es consecuencia directa de la activación del proceso nociceptivo, la experiencia consciente del dolor y la nocicepción puede ocurrir separadamente (20, 21).

En la mayor parte de los órganos y sistemas del cuerpo existe un grupo especial de receptores sensoriales a los que se conoce como nociceptores. La característica esencial de un nociceptor es su capacidad para diferenciar entre estímulos inocuos y estímulos nocivos para transformarlos en potenciales de acción que se transmiten hacia el SNC. Esto es debido al hecho de que los nociceptores son capaces de codificar la intensidad de un estímulo dentro del rango de intensidades nocivas, mientras que no responden o responden irregularmente a estímulos de intensidad baja, si bien, el valor absoluto de las intensidades nocivas no es constante entre todos los tejidos, sino que depende del órgano inervado (22). Se distinguen 3 tipos de nociceptores: cutáneos, músculo-articulares y viscerales.

1.1.4.1. Nociceptores cutáneos.

Hasta el momento han sido los más estudiados, por su accesibilidad. Responden a diferentes modalidades de estímulos incluyendo el mecánico, calor, frío y químico, por lo que se denominan receptores polimodales. Sin embargo, otros nociceptores son más especializados en su propiedad de respuesta, lo cual explica en parte los diferentes aspectos de la función sensorial nociceptiva, como el picor, el ardor, etc. Además, gracias a la microneurografía (técnica que consiste en insertar microelectrodos en un nervio aislado) se ha podido identificar tres clases de nociceptores en humanos, que responden exclusivamente a un tipo de estímulo, ya sea mecánico, térmico o químico; de tal manera que debemos considerar que, por lo menos, no todos los nociceptores son polimodales. El nociceptor se clasifica de acuerdo con el tipo de fibra que lo constituye:

- **Nociceptores A- δ** Se localizan en las capas superficiales de la dermis, con ramificaciones que se extienden hasta la epidermis. Son fibras mielínicas con velocidades

de conducción alta (entre 5 y 30 m/s) y sólo responden a estímulos mecánicos con umbrales muy altos.

- **Nociceptores C** Terminaciones nerviosas de fibras aferentes amielínicas con velocidades de conducción lenta (1.5 m/s.). Se sitúan en la dermis y responden a estímulos de tipo mecánico, químico y térmico, y a las sustancias liberadas de daño tisular (23).

Existen un grupo particular de nociceptores denominados silentes o durmientes, que sólo se activan tras inflamación o lesión tisular, y una vez activados responden a una gran variedad de estímulos. Este tipo de nociceptor se ha descrito en las articulaciones, especialmente durante la inducción de artritis experimental, en la vejiga de la orina inflamada y en el uréter hipóxico así como en la piel lesionada o inflamada (24).

La sensibilización de nociceptores clásicos o silentes es un proceso inducido por la liberación de una serie de factores tisulares que alteran las propiedades de transducción de la membrana de los nociceptores. Entre estas sustancias se encuentran la histamina, SP, BK, PGs, LT, iones de hidrógeno (H^+) y K^+ , todas ellas liberadas como resultado de la destrucción tisular. Algunas se liberan por las mismas terminaciones nerviosas mientras que otras son secretadas por células cebadas como consecuencia de la activación nociceptiva (25).

1.1.4.2. Nociceptores músculo articulares.

A nivel muscular los nociceptores son terminaciones de fibras A- δ (llamadas fibras del grupo III a nivel muscular) y de fibras C (llamadas fibras del grupo IV también a este nivel). Las fibras del grupo III responden a iones de K^+ , BK, 5-HT y a contracciones sostenidas del músculo. Las fibras del grupo IV responden a estímulos como presión, calor e isquemia muscular. Las articulaciones están inervadas por nociceptores que responden a movimientos articulares nocivos y son las terminaciones de fibras aferentes amielínicas. Se estimulan en presencia de factores liberados por el daño tisular y pueden ser sensibilizados por la inflamación local de la articulación (26).

1.1.4.3. Nociceptores viscerales.

Son los nociceptores menos conocidos, por la dificultad en su estudio. Responden a estímulos capaces de causar dolor visceral, pero solamente a intensidades de estimulación por encima del rango nocivo, mientras que los receptores sensoriales no específicos responden tanto a estímulos nocivos como a intensidades de estímulo inocuas. La mayor

parte son fibras amielínicas y el tipo de estímulo que despolariza el receptor varía de acuerdo con el órgano en el que se encuentra. Por ejemplo en el corazón es el estímulo químico, en el pulmón es la vasoconstricción, la congestión y el edema; en las vías respiratorias es el estímulo mecánico y químico; en las vías biliares es la distensión, la contracción y la hipertensión; y en el tracto genitourinario es la tracción, la distensión y la irritación (22).

1.1.4.4. Características fisicoquímicas de los nociceptores.

- **Excitabilidad** Se refiere a la capacidad para generar un potencial de acción que transporte el estímulo hacia el SNC.
- **Especificidad** Cada receptor sensorial es selectivo sobre el estímulo a captar y de esta forma específico para el órgano en el que se encuentra.
- **Adaptación** Es una característica principalmente de la neurona que inicia una respuesta al impulso y no del receptor como tal.
- **Codificación** Se refiere a la capacidad de traducir el estímulo en corriente eléctrica para su interpretación cortical. Esto incluye enviar un número mayor de impulsos al SNC si el estímulo es más intenso, o no generar un potencial de acción si el estímulo no es capaz de superar el umbral de membrana.

1.1.5. Fisiología del dolor inflamatorio.

Cuando el cuerpo detecta estímulos que dañan el tejido, la destrucción de células hace que en el área donde estuvo la lesión se secreten varios factores, entre ellos adenosín trifosfato (ATP), PGs, histamina, H^+ , 5-HT y BK, lo que activa por sí solo la terminal libre del nervio, al mismo tiempo activa la función mastocítica de los neutrófilos aumentando la salida de histamina y potenciando la función del dolor. Además, el nervio al tener un entronque en la médula tiene una eferencia que va a liberar SP y al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, por sus siglas en inglés), haciendo que haya una vasodilatación, mayor cantidad de sangre y mecanismos proinflamatorios.

Cuando llega la aferencia de la periferia a la médula pasando por el ganglio de la raíz dorsal llega a las astas posteriores, en el mismo segmento medular o uno superior a este hay un cambio de lado (de izquierda a derecha) haciendo el sistema anterolateral (Fig. 2).

Cuando pasan de la vía periférica hacia la médula pasa por dos vías principales, las fibras A δ y fibras C, una vez en la médula se hacen diferentes entronques. La primera neurona es

de la periferia hacia la médula, una vez ahí hace sinapsis con la neurona de segundo orden haciendo cambio de lado, la información va ascendiendo, llegando a la médula oblonga hasta el tálamo, donde hace sinapsis con la neurona del tercer orden que la lleva a la corteza somatosensorial permitiendo la discriminación dolorosa (Fig. 3).

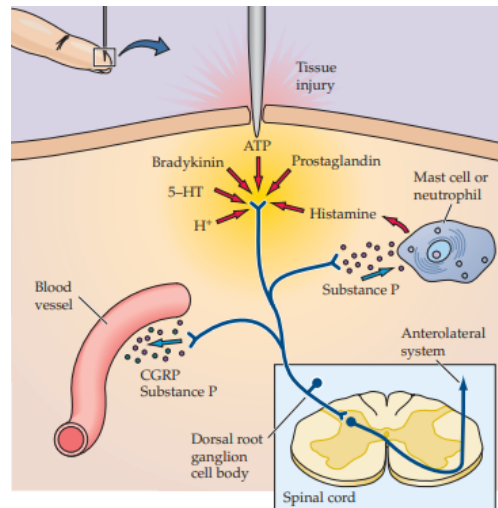


Figura 2. Mecanismo de inflamación e inicio del sistema anterolateral. Al dañarse el tejido, se estimula la secreción de sustancias sensibilizadoras y activadoras del proceso inflamatorio, lo cual activa la terminal libre del nervio potenciando la función del dolor. El estímulo llega al ganglio de la raíz dorsal donde a nivel medular hace un cambio de lado haciendo el sistema anterolateral (27).

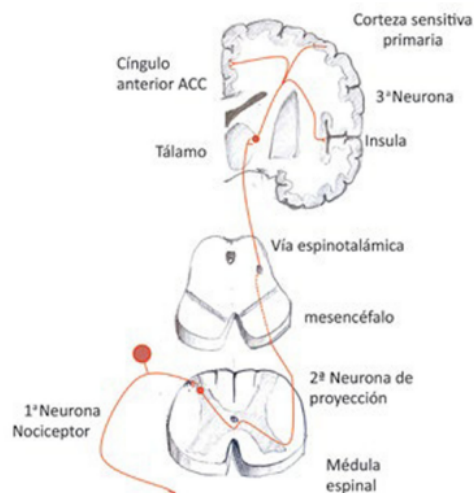


Figura 3. Sistema espinotalámico o anterolateral. El estímulo viaja a través de la neurona de primer orden llevándolo hasta la neurona de segundo orden, la cual hace entronque con la neurona de tercer orden en el tálamo, llevando el estímulo hacia la corteza somatosensorial para activar la discriminación dolorosa (28, 29).

En la neurona pre-sináptica hay vesículas llenas de glutamato (Glu) que es el principal excitador del SNC, cuando la polaridad de la neurona cambia, el Glu se libera al espacio sináptico y se acopla a varios receptores, pero el principal es el receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico, cuando este receptor recibe al glutamato abre compuertas de tipo iónico que permiten la salida de K^+ y sodio (Na^+), lo que irá cambiando la polaridad de la membrana, permitiendo que el magnesio (Mg^{2+}) se desacople del receptor N-metil-D-aspartato. Cuando el Glu se acopla y se libera Mg^{2+} a razón del cambio de potencial se permite el paso no solo de Na^+ sino también de iones de calcio (Ca^{2+}) de la parte extracelular a la intracelular cambiando mucho más la polaridad de la membrana y permitiendo que haya una despolarización (29) (Fig. 4).

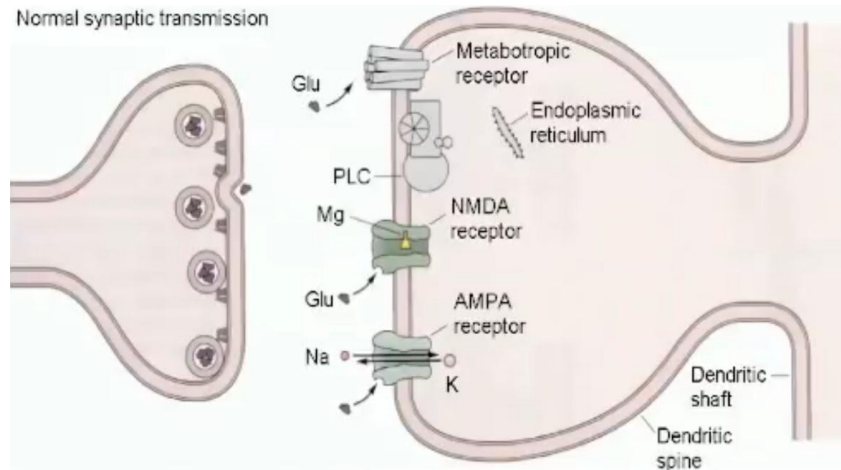


Figura 4. Transmisión sináptica. En la membrana pre sináptica hay moléculas que se acoplan a receptores específicos para cambiar la polaridad de la membrana y de esa manera sensibilizar a los nociceptores evocando un proceso doloroso (29).

Cuando el Glu se empieza a acumular en el espacio sináptico inicia su recaptura por medio de los transportadores de glutamato-1 (GLT1), que son recapturadores ubicados en los astrocitos cuando aumenta la concentración de Glu, el GLT1 recaptura al 97% de este haciendo que se convierta en glutamina por medio de glutamato sintetasa dentro del astrocito.

El efecto combinado de las sustancias antes mencionadas sensibiliza a los nociceptores clásicos y activa a los nociceptores silentes, evocando una hiperalgesia primaria en individuos fisiológicamente normales donde existe un equilibrio entre la lesión tisular y el grado de dolor percibido. Este equilibrio puede perderse ante estímulos dolorosos muy

intensos, prolongados o repetitivos, dando variaciones en la intensidad y duración de las respuestas nociceptivas resultando en alodinia (30).

1.1.6. Hiperalgnesia.

Se define como un aumento de la respuesta a estímulos que son normalmente dolorosos, es un fenómeno sensorial que aparece en individuos normales como consecuencia de lesiones tisulares, pero puede también presentarse sin lesión previa, como consecuencia de síndromes neuropáticos. La hiperalgnesia proporciona al organismo un mecanismo protector añadido al del dolor, ya que contribuye a la prevención de estimulaciones adicionales de la zona lesionada, con ello estimula el proceso curativo y de cicatrización de la lesión previa.

Abarca dos zonas concéntricas: la zona de hiperalgnesia primaria que rodea inmediatamente a la lesión y la zona de hiperalgnesia secundaria que se extiende más allá de la zona dañada, llegando a áreas no afectadas por la lesión. Estas dos alteraciones producen respectivamente la sensación de dolor evocado por el tacto y el aumento de la sensibilidad a los estímulos mecánicos nocivos (19).

1.1.7. Alodinia.

Se produce por uno o varios estímulos no nocivos que se perciben como dolorosos. Para que estos estímulos no dolorosos sean percibidos como tales, debe haber dos mecanismos adicionales: a) reorganización central de las vías aferentes, y b) pérdida de los mecanismos inhibitorios (31).

Por otro lado, la inducción de una vasodilatación local y aumento de permeabilidad capilar ayudan a iniciar la reacción inflamatoria y con ello el proceso curativo.

1.2. Inflamación.

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora; mediante la secreción de diversos mediadores inflamatorios y el reclutamiento de células inmunes (32, 33). El proceso inflamatorio se caracteriza por la extravasación de líquido al sitio donde se ubica el daño, que produce edema (tumor), aumento del flujo sanguíneo (rubor), aumento en la temperatura local (calor) y activación de terminales aferentes (dolor), así como, ocasionalmente, la pérdida de la función local (34, 35).

En el proceso inflamatorio, la defensa frente a microorganismos está mediada por una respuesta temprana por parte de la inmunidad innata y una respuesta tardía por parte de la inmunidad adaptativa. La inmunidad innata o inespecífica es una respuesta extremadamente rápida, que carece de memoria inmunológica, cuyos principales componentes son las barreras físicas, como el epitelio; las células fagocíticas (neutrófilos y macrófagos), células dendríticas y células natural killer (Células NK); proteínas sanguíneas mediadoras de la inflamación (sistema del complemento) y citocinas, que regulan y coordinan la mayoría de los procesos inflamatorios (36).

1.2.1. Prevalencia.

Las enfermedades inflamatorias y autoinmunes sistémicas tienen gran prevalencia en la población general, siendo consideradas patologías muy frecuentes. Según estudios epidemiológicos más del 20% de la población sufre alguna de estas enfermedades, lo que se traduce en 1 de cada 5 personas (37).

Doce de las quince principales causas de muerte en el mundo cursan con un proceso inflamatorio: enfermedad coronaria, cáncer, enfermedades respiratorias y pulmonares, derrame cerebral, diabetes mellitus, enfermedad renal, septicemia, enfermedad hepática crónica, cirrosis, hipertensión, enfermedad de Alzheimer y mal de Parkinson (38). Estas enfermedades suponen una reducción de la calidad de vida en estos enfermos, además de un gran coste desde el punto de vista social y sanitario. La inflamación es un promotor clave de las enfermedades degenerativas, que matan a millones de personas cada año, afectando por ello al desarrollo socioeconómico de los países (39).

1.2.2. Clasificación de la inflamación.

El proceso inflamatorio puede ser agudo o crónico. El agudo, denominado también reacción de fase aguda, puede ser local o sistémico (40).

Esta respuesta comienza minutos u horas después de la lesión y participan mecanismos de respuesta inmune innata que activan la adaptativa. Sus características fundamentales son la exudación de líquido y proteínas plasmáticas (edema), y la migración de leucocitos (principalmente neutrófilos). Puede evolucionar hacia la resolución, con la recuperación completa de la funcionalidad y la morfología tisular, o bien hacia la cicatrización, la supuración o la inflamación crónica.

La inflamación aguda, al principio puede ser de forma local, donde es una respuesta de protección estrechamente controlada por el organismo en el lugar de la lesión (41). Se caracteriza por el paso de proteínas plasmáticas y leucocitos de la sangre a los tejidos. El proceso es regulado por sustancias que actúan directamente sobre las diferentes poblaciones celulares ubicadas en el entorno del área infectada o lesionada; estas sustancias son secretadas principalmente por mastocitos, basófilos, plaquetas, células fagocíticas y endoteliales (40).

Si el proceso continúa se convierte en una inflamación sistémica, la cual es caracterizada por una elevación en los niveles circulantes de proteínas de fase aguda y citocinas con actividad inflamatoria, tales como proteína C reactiva, factor de necrosis tumoral α (FNT- α) y las interleucinas (IL 1 β , 6 y 17), así como aumento en la infiltración de células inmunes como macrófagos y linfocitos T en tejidos insulino-dependientes.

Cuando la inflamación se mantiene de manera continua (semanas o meses), los intentos fallidos de reparación comienzan a ocasionar daño tisular, denominándose inflamación crónica (42), en la cual existe proliferación de fibroblastos y del endotelio vascular, así como un influjo de las llamadas células inflamatorias crónicas (linfocitos, células plasmáticas, macrófagos). En ocasiones la inflamación crónica es primaria, puede empezar aun cuando no haya lesión, y no termina cuando desaparece la lesión inicial. No siempre se sabe por qué continúa la inflamación. La inflamación crónica puede ser causada por infecciones que no desaparecen, por reacciones inmunitarias anormales a los tejidos normales o por estados como la obesidad. Con el tiempo, la inflamación crónica puede causar daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) y llevar al cáncer.

1.2.3. Respuesta celular.

Cualquier agresión local a un organismo desencadena respuestas en tres niveles de la organización: celular, tisular y orgánico. La respuesta celular es individual y aislada, tiene por objetivo defender su acervo génico y mantener la conformación nativa de sus proteínas. Para sobrevivir, los organismos deben enfrentarse a las agresiones que, constantemente, amenazan la integridad y función de sus genes y que pueden afectar a los exones o a las regiones no codificantes como los promotores. En el ámbito de la inflamación aguda tienen mayor interés las lesiones inducidas, en las regiones promotoras de los genes, por diferentes especies reactivas de oxígeno liberadas por las células fagocíticas activadas. Su presencia

puede interferir la interacción con factores de transcripción, específicamente con los involucrados directamente en la respuesta inflamatoria. Para hacer frente a los daños infligidos por los elementos genotóxicos, internos y externos, los organismos han desarrollado mecanismos que enlentecen o bloquean la proliferación mediante su actuación en los puntos críticos del ciclo celular, que promueven la reparación del ADN o que eliminan las células agredidas poniendo en marcha programas de suicidio celular o apoptosis. La célula decide entre vivir o morir, en respuesta a la lesión en su ADN no sólo porque el destino celular sea crítico, sino para evitar consecuencias desastrosas para el organismo como el cáncer (43-46).

Las proteínas de choque térmico (HSP, por sus siglas en inglés), también denominadas proteínas de estrés están presentes en todas las células de todas las formas de vida. Expresadas en condiciones normales, diversos tipos de estrés ambiental o endógeno inducen su producción. Actúan como chaperonas moleculares asegurando que cada proteína alcance su conformación funcional en el lugar y en el momento adecuado. Para ello, intervienen en el proceso de plegamiento peptídico, en su distribución intracelular y en su degradación.

Las HSP pueden abandonar su espacio natural intracelular en situaciones de lesión/necrosis celular inducidas por la activación del inflammasoma, en cuyo caso suelen ir acompañadas de otras moléculas como la proteína high mobility group box-1, (HMGB1 por sus siglas en inglés); que actúan como citocinas proinflamatorias. Por su parte, las HSP son responsables, en cierto porcentaje de la denominada “respuesta a proteínas desplegadas”. Las condiciones de estrés o agresión celular que inducen el desplegamiento de las proteínas, reclaman la movilización del pool de HSP acoplado a aquellos receptores con la finalidad de reforzar la conformación nativa de las proteínas intracelulares. El desacoplamiento activa los receptores que disparan una cascada de señales intracelulares que provocan la expresión de genes proinflamatorios (47).

1.2.4. Respuesta tisular.

La respuesta tisular a la agresión o inflamación contempla cuatro acontecimientos interrelacionados:

- 1) La estimulación de las terminaciones nerviosas libres provoca dolor y liberación de péptidos bioactivos: neuropéptidos.

2) Las células dañadas liberan proteínas constitutivas intracelulares: HSP, factor nuclear HMGB1 y N-formil-péptidos mitocondriales.

3) Los microorganismos y sus diferentes productos incitan, en colaboración con los anteriores, una respuesta inmunológica innata.

4) Señales emanadas del foco inflamatorio reclutan leucocitos en el lugar de la lesión (32).

1.2.5. Mediadores de resolución inflamatoria.

La resolución de la inflamación consiste en la participación de varios fenómenos fisiológicos que involucran la disminución de la proliferación y maduración de células inmunes, la inducción de la apoptosis y fagocitosis de leucocitos activos, así como la inhibición de la secreción de mediadores inflamatorios y la depuración de los mismos (48). Estos procesos son regulados cuidadosamente por moléculas señal e interacciones celulares con la finalidad de detener el daño en el tejido, erradicar el agente patógeno y permitir la regeneración tisular (49).

Los mecanismos que participan en la resolución de la inflamación son diversos; sin embargo, los mejor caracterizados son: la resolución local por derivados del ácido araquidónico (AA), la resolución por las descargas del sistema nervioso autónomo (SNA) y la resolución por citocinas antiinflamatorias. Además de los mecanismos mencionados, es importante considerar la resolución por la inducción de apoptosis de las células inmunes activas a través de los receptores de apoptosis y FNT- α (50).

1.2.5.1. Resolución local por derivados del AA.

El AA es el precursor de los eicosanoides, que tienen funciones distintas como mediadores proinflamatorios. Las PGs y los LT desempeñan acciones específicas principales para la progresión de la inflamación. Las interacciones intercelulares, por los leucocitos y las plaquetas en el interior del árbol vascular o las interacciones entre los polimorfonucleares y las mucosas, favorecen la generación de lipooxigenasas (LO) que sirven de señales de parada intravascular y promueven la resolución, sirviendo de mediadores antiinflamatorios endógenos que resuelven de forma espontánea la inflamación. Esto se denomina un cambio de clase dentro de los eicosanoides derivados del AA desde las PGs y los LT a las LO, que inician o son coincidentes con la secuencia de terminación a nivel tisular (51). Las LO A4 inhiben la diapédesis de neutrófilos en áreas de inflamación atenuándola a través de su receptor (AXL). Este receptor es acoplado a proteína G moviliza el Ca^{2+} e induciendo

cambios en la fosforilación del citoesqueleto llevando como consecuencia la reducción de las actividades del neutrófilo (52).

La prostaglandina D₂ (PGD₂) tiene efecto inmunosupresor a través del receptor DP1 y en menor proporción, por la participación del DP2; ambos receptores son acoplados a una proteína G, en particular G_s y G_{i/o}, respectivamente (53). Los ratones deficientes de la sintasa de la PGD₂ exhiben una respuesta inflamatoria exacerbada, aguda y persistente, en la cual fracasan en resolverla; mientras que los animales con sobreexpresión de la sintasa tienen un proceso inflamatorio ligero. Además, la PGD₂ se somete a una deshidratación no enzimática y forma prostaglandinas de la serie J₂ (PGJ₂) biológicamente activas. Inicialmente, la serie de PGJ₂ se identificó como el ligando natural del receptor γ activador de proliferación de peroxisomas (PPAR- γ). Sin embargo, los mecanismos antiinflamatorios son dependientes e independientes del PPAR- γ , pero convergen en la supresión de las vías de señalización proinflamatorias (53-55).

1.2.5.2. Resolución por las descargas del SNA.

El SN modula la respuesta inmunológica mediante distintas vías, como el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, así como las terminales aferentes primarias y eferentes autónomas (reflejo colinérgico por la activación de receptores nicotínicos $\alpha 7$) (56); que con la liberación de acetilcolina (ACh) desde las terminales del SNA parasimpático inhibe la secreción de FNT- α y la síntesis de citocinas en macrófagos viscerales (48).

Las células del sistema inmune expresan receptores para acetilcolina, los cuales transducen una señal intracelular inhibitoria; el receptor colinérgico mejor caracterizado en el proceso es el nicotínico compuesto por la subunidad $\alpha 7$ ($\alpha 7$ nAChR).

Por otro lado, la estimulación del SNA simpático produce la liberación de catecolaminas, específicamente de noradrenalina sobre los órganos linfoides que inducen la apoptosis de linfocitos a través de los receptores $\alpha 1$ y $\beta 2$ -adrenérgicos con la activación de la proteína cinasa C y proteína cinasa A, respectivamente, lo que propicia una disminución de la respuesta inflamatoria (50).

1.2.5.3. Resolución por citocinas antiinflamatorias.

La IL-10 y el factor de crecimiento transformante (FCT- β) son las principales citocinas antiinflamatorias que participan en la resolución de la inflamación. Tanto la IL-10 como el FCT- β son secretados por distintos linajes celulares, como linfocitos T (57) y por células

supresoras derivadas de mieloides (58). El receptor para IL-10 pertenece a los receptores tirosina cinasa con actividad extrínseca a través de la activación de la enzima JAK2 y la fosforilación posterior de las STAT3. Estos mecanismos transduccionales culminan en la proliferación de la célula que contiene el receptor y la acentuada disminución de la respuesta inmunológica (59). Por su parte, el receptor de FCT- β tiene actividad serina/treonina cinasa y en presencia del ligando produce la activación de las Smads (formación del heterodímero entre Smad 2 o 3 y Smad 4), que pueden modular la expresión génica de citocinas proinflamatorias; además, se ha demostrado que puede inducir apoptosis en las células con receptores a FCT y propiciar una disminución en el proceso inflamatorio.

El dolor y la inflamación después del daño tisular sirven como poderosas medidas de protección para promover el descanso y permitir la curación. Si bien los investigadores tienen una buena comprensión de las causas del dolor y la inflamación en primer lugar después de una lesión; ha sido posible gracias a los modelos animales de inflamación.

1.3. Modelos animales de inflamación.

En la actualidad, no podemos conocer las sensaciones de un animal, sólo podremos estudiar las reacciones de éstos ante estímulos nocivos de muy diversa naturaleza. Es por ello que Zimmerman et al. (1986) adaptó la definición de dolor de la IASP para que pudiera ser aplicada a los animales. Así, el dolor en animales sería: “una experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, que desencadena un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales” (60). En este sentido, los modelos animales de dolor inflamatorio han utilizado diferentes irritantes que se han inyectado en la piel, miembros posteriores, músculos, articulaciones y órganos viscerales. Estos irritantes incluyen aquellos que producen dolor inflamatorio agudo asociado con el reclutamiento de neutrófilos, así como respuestas de dolor más sostenidas asociadas con una infiltración de macrófagos. Por lo tanto, se usan para modelar afecciones con inflamación aguda y crónica, y todas han sido validadas mostrando la efectividad de los opioides y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) Tabla 1.

Tabla 1. Modelos animales de dolor inflamatorio.

Modelos experimentales de inflamación aguda	
Edema auricular	Edema de la oreja inducido por aceite de Croton (61). Edema auricular inducido por acetato de tetradecanoilforbol en ratón (62). 1-fluoro-2,4-dinitrobenceno aplicado tópicamente (63).
Edema plantar	Modelo de edema plantar por carragenina al 1% en ratas Wistar (64, 65). Test de la formalina (66).
Inflamación muscular	Aplicación de Notexin en el tibial anterior de la pierna derecha del animal (63).
Modelos experimentales de inflamación crónica	
Bolsa de aire en rata (67)	
Inducción de granuloma	Inducción de granuloma con pastilla de algodón en ratón CD1 (68).

1.3.1. Modelo de inducción de edema plantar por formalina al 1% en ratas Wistar.

La formalina, un irritante químico cuya administración se asocia con la aparición de lesión tisular, inflamación y dolor, ha sido extensamente utilizada como estímulo nocivo en varias especies animales, tales como la rata (69), ratón (70), y mono (71).

La administración de formalina, generalmente en el espacio subcutáneo de la cara plantar de la pata, constituye un modelo experimental animal de dolor inflamatorio moderado y persistente conocido como la prueba de la formalina. Dicho test ha sido ampliamente utilizado para estudiar diversos estados doloroso y sus patofisiologías subyacentes así como para evaluar acciones antinociceptivas de fármacos analgésicos, dado que imita algunas de las características de dolor inflamatorio en humanos (72), lo que le convierte en un modelo

clínicamente más adecuado que otros test que inducen un dolor fásico de intensidad umbral.

El volumen y concentración de formalina varía en las diferentes experiencias, aunque se recomiendan pequeños volúmenes y concentraciones inferiores al 1%, con el fin de evitar daños tisulares a largo plazo. Lo más interesante de este test es que se produce una respuesta bifásica (73).

La fase temprana y transitoria que se produce inmediatamente tras la administración de formalina se debe a una activación directa de los nociceptores periféricos mielinizados y no mielinizados. La fase tónica tardía depende igualmente de la conducción de fibras aferentes primarias, especialmente fibras C, así como el desarrollo de un proceso inflamatorio local con liberación de sustancias algógenas que se desarrolla en el lugar de la administración y de cambio inducidos por la actividad neuronal generada en la primera fase del SNC y en los cuales están implicados aminoácidos excitadores, la SP y los receptores correspondientes (74).

Este modelo tiene una gran coherencia interna y está validado por múltiples estudios, reuniendo además la mayor parte de los requerimientos éticos, lo que hace del mismo un magnífico modelo animal de dolor relacionado con la inflamación, es decir, el dolor inflamatorio o postraumático (73).

1.3.1.1. Edema.

El edema es el aumento de volumen del líquido en el intersticio que se manifiesta clínicamente por un hoyuelo al presionar la piel (75). Aproximadamente dos tercios de todos los fluidos corporales son intracelulares. El tercio restante se encuentra en el espacio extracelular. Dentro de este espacio extracelular, una cuarta parte es líquido intravascular (también conocido como plasma) y las tres partes restantes conforman el espacio intersticial, el líquido intersticial (76). Este líquido es una sustancia con solutos disueltos, que bañan y rodean células y tejidos. Se encuentra en los espacios intersticiales (o intersticio), que no son más que huecos entre las estructuras celulares. Forma parte del espacio extracelular. Cuando este líquido se presenta en exceso, se aplica el término "edema" (77). Como terapia farmacológica se suelen administrar AINEs y glucocorticoides (78).

1.3.2. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).

Los AINEs se encuentran entre los medicamentos más prescritos en todo el mundo (79). Constituyen un grupo heterogéneo de fármacos que poseen propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas debido a su capacidad para inhibir la producción de PGs, la cual se desarrolla a través de la inhibición de la oxidación del AA por las enzimas ciclooxigenasas (COX). Es así, que la primera enzima en la vía sintética de las PGs es la COX, también conocida como PG G/H sintasa (80).

Se han descrito diversos efectos periféricos, espinales y supraespinales de los AINEs para explicar su efecto analgésico.

- **Efectos periféricos.**

Inhibición de la síntesis de PGs.

Varios experimentos han demostrado que los AINEs producen diferentes grados de inhibición de la reacción inflamatoria y del dolor en modelos animales. En un inicio se demostró que los modelos animales donde los AINEs eran activos tenían siempre un componente inflamatorio. Esas observaciones sugirieron un componente periférico importante en su actividad farmacológica.

Las PGs, liberadas durante el daño al tejido constituyen un componente importante para la generación de hiperalgesia y dolor. Se considera que los AINEs producen su efecto analgésico mediante la inhibición periférica de la síntesis de PGs bloqueando la enzima COX que se encarga de sintetizar las PGs liberadas durante el proceso inflamatorio. Además, los AINEs disminuyen la sensibilización de los nociceptores a las acciones pronociceptivas de BK, histamina y 5-HT.

Estimulación de la vía óxido nítrico-guanosín monofosfato cíclico (ON-GMPc).

Los fármacos que activan la vía ON-GMPc periférica bloquean el dolor, pero no el edema, a diferencia de los inhibidores puros de la COX que bloquean ambos. La estimulación de esta vía permite bloquear directamente el dolor y no solo la sensibilización, lo cual explica por qué se puede obtener un efecto analgésico más rápido con estos fármacos.

Los AINEs que han demostrado restablecer el equilibrio adenosín monofosfato cíclico (AMPc)/GMPc en el nociceptor son: metamizol, ketorolaco, diclofenaco, nimesulida y meloxicam.

Activación de canales en K^+ .

La hiperalgesia está asociada a cierre de canales de K^+ produciéndose una despolarización con la consecuente reducción del umbral del dolor, mientras que la analgesia está asociada con la hiperpolarización de las neuronas nociceptivas.

El principal subtipo parece ser el canal de K^+ sensible a ATP, sin embargo, otros subtipos como el canal de K^+ activado por calcio o voltaje parecen participar dependiendo del analgésico administrado. La activación de la vía ON-GMPc conduce a la apertura de algunos subtipos de canales de K^+ .

- **Efectos centrales.**

Inhibición de la síntesis de PGs.

Se ha sugerido y demostrado que los AINEs tienen efectos centrales que contribuyen de manera importante a su efecto analgésico. Las PGs espinales participan en el procesamiento de la información nociceptiva o dolorosa y la administración espinal de sustancias que inhiben la síntesis de PGs revierte la hiperalgesia producida por estas sustancias.

La inyección espinal de PGs, incluyendo a la PGE_2 , produce hiperalgesia de una manera dosis-dependiente mientras que la inyección espinal de antagonistas del receptor a PGE_2 disminuye los estados de hiperalgesia. Las PGs activan receptores de membrana, del tipo EP, a nivel presináptico aumentando la conductancia al calcio y disminuyendo las corrientes de K^+ .

1.3.2.1. Meloxicam.

El meloxicam (Fig. 5), al igual que el piroxicam, es un derivado del ácido enólico; pertenece al grupo de los AINEs. Éste ha mostrado una potente actividad antiinflamatoria en todos los modelos estándar de inflamación con un mecanismo común para sus efectos los cuales se derivan de la capacidad del meloxicam de inhibir la biosíntesis de PGs, conocidas como sustancias mediadoras de la inflamación.

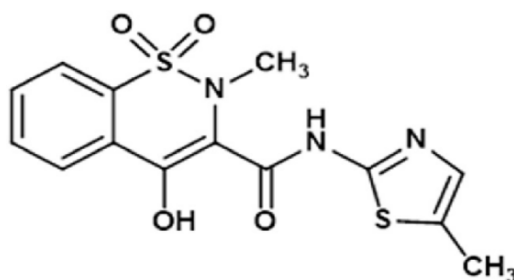


Figura 5. Estructura química del Meloxicam (81).

- Propiedades terapéuticas.

El meloxicam tiene propiedades analgésicas y antipiréticas, se utiliza en el tratamiento del dolor y la inflamación a consecuencia de traumatismos, artritis reumatoide, osteoartritis, distensiones musculares y procesos inflamatorios en tejidos blandos, vías respiratorias y ginecología (82). En medicina veterinaria el fármaco es aplicable a todo animal sometido a cualquier proceso experimental que cause dolor en los animales, a menos que su uso esté contraindicado por razones científicas, debidamente argumentadas por escrito por el investigador. Además se sugiere el uso de meloxicam como medicina alternativa al diclofenaco en animales de consumo humano y en el ganado al sur de Asia (para reducir la toxicidad para los buitres que pueden consumir sus cadáveres) (83).

Se considera que en humanos la dosis efectiva es de 7.5 a 15 mg/kg (84) mientras que para ratas la dosis máxima efectiva es de 10 mg/kg (20).

- Toxicidad.

El meloxicam produce efectos adversos, entre los más frecuentes se encuentran dolor abdominal, diarrea, náusea y vómito, cefalea, infección en las vías respiratorias superiores. Mientras que edema, estreñimiento, flatulencia, mareos, insomnio, prurito, hipertensión, infarto al miocardio, úlceras gastrointestinales, anemia, hepatitis y reacciones anafilácticas son de las menos frecuentes. Se debe tener una precaución especial en pacientes con antecedentes de hipertensión y/o insuficiencia cardiaca, ya que se ha notificado retención de líquidos y edema en asociación con el tratamiento de AINEs.

- Mecanismos de acción.

Desarrolla una potente actividad inhibitoria selectiva sobre la COX-2 tanto *in vivo* como *in vitro* en la cascada de las PGs, y desde 1994 es reconocido como tal (85). El bloqueo selectivo y específico sobre la COX-2 le otorga un doble beneficio terapéutico al lograr por un lado una notable actividad antiinflamatoria y analgésica, y por el otro, una excelente tolerancia con mínimos efectos gastrolesivos o ulcerogénicos.

También inhibe la migración de leucocitos hacia el sitio de inflamación y la liberación de enzimas lisosomales, lo que parece contribuir a su efecto antiinflamatorio (82).

En ratones tiene una biodisponibilidad de al menos 70% por vía oral y su concentración plasmática disminuye aproximadamente entre 4 y 6 horas. Se une a proteínas plasmáticas

en un 99% y se distribuye ampliamente en el organismo, metabolizándose en el hígado por la vía del citocromo P450 y excretándose a través de heces y orina (86).

1.3.3. Antiinflamatorios esteroideos (glucocorticoides).

Los glucocorticoides (GC), también llamados corticoides o corticoesteroides, son fármacos potentes, producida por la glándula suprarrenal, su secreción es estimulada por la hormona adenocorticotropa hipofisaria. Todas ellas aumentan el nivel de glucosa en la sangre, movilizan el calcio óseo y se comportan como antiinflamatorios (76). Como antiinflamatorios, los GC logran la reducción de la concentración, distribución y función de los leucocitos periféricos, de la síntesis de PGs, LT, enzimas proinflamatorias, producción de peróxido por los neutrófilos, eosinófilos e inmunoglobulinas, desencadenando la apoptosis y disminuyendo factores quimiotácticos, como la IL3, IL5 (87). Causan vasoconstricción, lo que disminuye la permeabilidad capilar, inhibiendo la actividad de cininas, endotoxinas bacterianas y cantidad de histamina liberada por basófilos (88).

En la práctica endócrina, los corticoides son usados tanto con fines diagnósticos para el síndrome de cushing y terapéuticos para la insuficiencia adrenal (89, 90), hiperplasia suprarrenal congénita (91), hiperandrogenismo (92) y oftalmopatía tiroidea (93), entre otros usos. En cuanto a los usos no endocrinos, el objetivo es aprovechar los efectos antiinflamatorios, antialérgicos, inmunosupresores y antineoplásicos de estos fármacos. Dentro de las indicaciones se encuentran las enfermedades reumáticas y colagenopatías, enfermedades alérgicas y picaduras de insectos, dermatopatías, entre otras.

Sin embargo, los corticoides afectan casi todo el organismo, por ello las reacciones adversas especialmente tras la terapia sistémica son múltiples y variadas. De forma aguda se puede producir insuficiencia adrenal aguda por supresión brusca de la terapia corticoide crónica, situación que puede ser mortal pues provoca desbalance autonómico.

Otras alternativas terapéuticas para el tratamiento del dolor son los productos naturales derivados de las plantas. Al respecto, cada población en el mundo posee un conocimiento heredado por sus antepasados en relación con el uso de plantas con propiedades terapéuticas, las cuales tienen una importante aceptación en la población como una alternativa para resolver problemas de salud como el dolor. Es así que el conjunto de conocimientos relativos a las propiedades curativas de las plantas, denominado como

herbolaria, aún constituye el recurso más conocido y accesible para grandes núcleos de la población Organización Mundial de la Salud (OMS) (21).

1.3.4. Herbolaria.

La herbolaria es parte de la medicina tradicional y nuevamente está cobrando popularidad, debido a esta necesidad de regresar a lo básico o lo de antes, a lo natural, a lo que la naturaleza nos brinda para poder curarnos (94). Las plantas, en todo el mundo, no sólo han sido nuestra principal fuente de alimentación y medicinas, sino la fuente de muchas de las aspiraciones, de los mitos, de los significados simbólicos y de las conductas rituales humanas.

La herbolaria se refiere al conjunto de conocimientos relativos a las propiedades de las plantas para curar o generar algún beneficio en el ser humano. Actualmente, la OMS, reconoce el valor de esta práctica terapéutica como un recurso eficaz, haciendo énfasis en que un 80% de la población mundial utiliza la herbolaria para satisfacer o complementar sus necesidades de salud (95).

Actualmente, existe una gran documentación científica relacionada con la herbolaria mexicana, ya que es el recurso más conocido y accesible para muchos núcleos de la población en México (96, 97). Los conocimientos sobre herbolaria son transmitidos de generación en generación, siendo actualmente reconocidos e investigados por diversas disciplinas científicas, tales como: Química, Biología, Botánica y Farmacología, desarrollando fármacos, saborizantes y aceites aromáticos, entre otros productos, a base de estas plantas (98).

Los hallazgos obtenidos a través del tiempo, han permitido distinguir una amplia variedad de hierbas con propiedades como analgésicas generales, antiinflamatorias (99, 100), diuréticas (101), hipoglucemiantes (102), entre otras. En México, existe un sinnúmero de plantas medicinales de uso tradicional, producto de la combinación de la herbolaria precolombina y la europea, entre ellas se puede citar a *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii*.

1.3.4.1. *Rosmarinnus officinalis* (romero).

Es una planta mediterránea cuyo término se deriva del griego “*rhops y myrinos*” que significa “arbusto marino” por su crecimiento cercano a las costas. El epíteto “*officinalis*”

se aplica a muchas especies que se usan en las oficinas o farmacias y también a aquellas plantas que son consideradas medicinales (103).

El romero es una de las especies aromáticas que mayor ha estimado desde tiempos remotos, gracias a sus propiedades medicinales, comestibles y aromatizantes. El romero fue modificado a través de los Alpes por los primeros monjes cristianos, siendo muy popular en los jardines monásticos.

En la antigua Roma se empleaba para adornar los relicarios de los espíritus protectores del hogar. En Atenas se solía colocar las ramas de romero sobre las manos de los fallecidos, como símbolo de la inmortalidad del alma. Los jóvenes colocaban ramas entrelazadas en el pelo para estimular la memoria y el resto de las actividades mentales. Por otra parte, el romero se esparcía en las habitaciones de los enfermos como desinfectante aromático. En el siglo XVI la reina Isabel de Hungría lo utilizó para tratar el reumatismo que padecía convirtiéndose en “el agua de la reina de Hungría”, también uno de los remedios más famosos de la corte de Luis XIV. Los boticarios empleaban el romero en gran número de preparados, pero en la actualidad sólo el aceite esencial está incluido en las farmacopeas (104).

1.3.4.1.1. Descripción botánica.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de romero (105).

Reino: Plantae	Subreino: Viridiplantae
División: Traqueofita	Subdivisión: Spremathophytina
Clase: Magnoliopsida	Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae	Género: <i>Rosmarinus</i>
Especie: <i>R. officinalis</i>	

El romero (Fig. 6) es un arbusto leñoso de hojas perennes muy ramificado, puede llegar a medir 2 metros de altura. Lo encontramos de color verde todo el año, con tallos jóvenes borrosos (aunque la borra se pierde al crecer) y tallos añosos de color rojizo y con la corteza resquebrajada. Las flores son de unos 5 mm de largo. Tienen la corola bilabiada de una sola pieza. El color es azul violeta pálido, rosa o blanco, con cáliz verde o algo rojizo, también bilabiado y acampanado. Son flores axilares, muy aromáticas y melíferas

(contienen miel), se localizan en la cima de las ramas, tienen dos estambres encorvados soldados a la corola y con un pequeño diente.

El fruto, encerrado en el fondo del cáliz, está formado por cuatro pequeñas nuececitas trasovadas, en tetraquenio, de color parduzco.

En zonas templadas la floración es prácticamente todo el año. En zonas frías, de finales del invierno a mediados de otoño.



Figura 6. Arbusto aromático de hoja perenne y racimo de flores labiadas color violeta (98).

1.3.4.1.2. Distribución geográfica.

Rosmarinus officinalis, es una planta que crece en todas partes del mundo se distribuye desde la región mediterránea, sur de Europa, norte de África. Incluso se encuentra también en Asia Menor y Sudamérica. En España se halla en la mayor parte de Cataluña, hasta los Pirineos en Aragón y Navarra, Castilla-La Mancha, Castilla y León, La Rioja, Madrid, Murcia, Extremadura, en las zonas montañosas de la Comunidad Valenciana, Andalucía e islas Baleares, en Centro de América y el Caribe, a nivel de América del sur crece en varios países, en el Perú crece en la costa, sierra y selva.

Este arbusto se desarrolla en climas tropicales, subtropicales y húmedos, y en suelos áridos, secos, ligeros, algo arenosos, muy permeables, bien drenados, calcáreos o pobres, pero no se adapta a las tierras arcillosas compactas.

1.3.4.1.3. Composición química.

Los componentes del aceite esencial de romero son el alcanfor (5.0–21%), 1,8-cineol (15–55%), α -pineno (9.0–26%), borneol (1.5–5.0%), canfeno (2.5–12%), β -pineno (2.0–9.0%) y limoneno (1.5–5.0%) en proporciones que varían de acuerdo con la etapa vegetativa y las

condiciones bioclimáticas. Respecto a los extractos, los fitoquímicos presentes principalmente son ácido rosmarínico, alcanfor, ácido cafeico, ácido ursólico, ácido betulínico, ácido carnósico y carnosol. Por lo tanto, el romero se compone principalmente de compuestos fenólicos, di y triterpenos y aceites esenciales (98, 106).

1.3.4.1.4. Actividad farmacológica.

Rosmarinus officinalis es carminativo, digestivo y antiespasmódico, y tiene propiedades coleréticas, colagogas y hepatoprotectoras. El efecto favorable que ejerce en la digestión se produce al actuar sobre varios niveles. En primer lugar, estimula la producción de los jugos gastrointestinales. Además, relaja el músculo liso gastrointestinal, elimina posibles espasmos y favorece las secreciones (107).

La planta ejerce también un efecto diurético, antiinflamatorio, antiulcerogénico y antioxidante. Aunque en la literatura científica no se han descrito ensayos clínicos sobre estas propiedades farmacológicas, sí que se han demostrado mediante ensayos “*in vivo*” e “*in vitro*”.

Su actividad colagoga, colerética y protectora hepática, así como su efecto diurético se ha observado en ratas y cobayos. Algunos ensayos farmacológicos han permitido asimismo demostrar que el aceite esencial, algunos extractos y varios de sus componentes aislados, relajan las musculaturas lisas traqueales, intestinales y vasculares de distintos animales de experimentación (108).

En cuanto a la actividad antiinflamatoria de los principios activos del romero, se ha comprobado que el aceite esencial y el extracto inhiben significativamente la migración de leucocitos *in vivo* (109). Reduce el número de leucocitos (glóbulos blancos) en el sitio de inflamación, resultando en una respuesta antiinflamatoria (110, 111). El extracto de romero también inhibe otras sustancias proinflamatorias, tales como el ON y los genes asociados a la inflamación (112). Mientras que el carnosol y el ácido carnósico parecen ser particularmente importantes, la actividad antiinflamatoria del romero probablemente depende de un mecanismo sinérgico entre muchos de sus componentes (109, 113). Estos estudios sugieren que el efecto antiinflamatorio de *Rosmarinus officinalis* es bastante fuerte; de hecho se encontró que las actividades antiinflamatorias del carnosol puro y el ácido carnósico era nueve veces más alto que el de indometacina, un fármaco antiinflamatorio común (113).

1.3.4.1.5. Efectos secundarios y contraindicaciones.

Se considera que el principio activo de *Rosmarinus officinalis* carece de toxicidad; sin embargo, las personas especialmente sensibles pueden experimentar reacciones alérgicas, especialmente dermatitis por contacto. Asimismo, no es recomendable que las personas con cálculos biliares lo consuman sin consultar previamente con un médico. Esto es debido a que cuando existe litiasis biliar, un aumento del drenaje de la vesícula biliar puede ir acompañado de una obstrucción de los conductos biliares.

Finalmente, aunque la probabilidad de presentar una intoxicación por el consumo de infusiones de romero es muy baja, una sobredosis podría derivar en un cuadro caracterizado por espasmo abdominal, vómitos, gastroenteritis, hemorragia uterina e irritación renal.

El romero no debe usarse en el transcurso del embarazo, ya que existe la posibilidad de que induzca un aborto espontáneo por su posible efecto estrogénico. Tampoco debe emplearse durante la lactancia (114).

1.3.4.2. *Taxodium huegelii* (ahuehuate).

El ahuehuate es conocido con el nombre común de ciprés mexicano, ciprés de Moctezuma (115), sabino, *ahuehuetl*, *quetzalhuehuetl* (sabino precioso)(116) o ahuehuate ("árbol viejo de agua" del náhuatl *Huéhuetl*, viejo, y *Atl*, agua).

Son árboles longevos (Fig. 7), que alcanzan los miles de años de antigüedad. Su origen se remonta a la era Mesozoica, entre 100 y 200 millones de años, cuando las coníferas dominaban el paisaje y formaban impresionantes bosques primitivos.



Figura 7. Árbol de *Rosmarinus officinalis* "árbol viejo de agua" (117).

1.3.4.2.1. Descripción botánica.

Tabla 3. Clasificación taxonómica de ahuehuete (118).

Reino: Plantae	Subreino: Tracheobionta
División: Tracheophyta	Clase: Pinopsida
Orden: Pinales	Familia: Cupressaceae
Género: <i>Taxodium</i>	Especie: <i>T. huegelii</i>

Taxodium huegelii es un árbol frondoso perennifolio o subperennifolio, con troncos de diámetros considerables entre 2 y 14 metros y alturas de hasta 40 metros.

Las hojas están ordenadas en espiral y yacen en dos filas horizontales superpuestas y son de uno o dos cm de largo y de uno a dos mm de ancho. Las piñas son ovaladas, prácticamente esféricas de 1.5 a 2.5 cm de largo y de 1 a 2 cm de ancho, con escamas poligonales piramidales. Produce semillas todo el año, sobre todo entre agosto y noviembre (119, 120) (Fig. 8).



Figura 8. Hojas en espiral y frutos ovalados de *Taxodium huegelii* (117).

A diferencia de otros cipreses que habitan zonas pantanosas, los ahuehuetes son árboles de altos requerimientos de agua, prosperando en suelos aluviales profundos y con deficiente drenaje, prefiriendo aquellos sustratos con valores de pH por debajo de 7. Siempre habitan las orillas de los ríos, arroyos y riachuelos permanentes, donde la base de los árboles se encuentra sumergida la mayor parte del año.

1.3.4.2.2. Distribución geográfica.

Es nativa de México, aunque también se le encuentra en zonas muy localizadas del sur de Texas y noroeste de Guatemala (119).

1.3.4.2.3. Composición química.

Hay pocos estudios farmacológicos y químicos (Tabla 4), los compuestos que se han aislado de la corteza de *Taxodium huegelii* son las biflavonas: 7,4-dimetilamentoflavona, podocarpusflavona y amentoflavona, y se prueban sus potentes efectos inhibidores sobre la catepsina B humana, proteasa que ha sido implicada en la patología de numerosas enfermedades, incluyendo artritis y cáncer (121, 122). Así mismo, en varios estudios científicos el compuesto 3-O- β -D-glucósido de quercetina se le ha comprobado efectos inhibitorios de las COX (123), que pueden explicar su efecto antiulcerante, la amentoflavona es antagonista de la BK (121) e inhibe la producción de ON en macrófagos (124, 125) además de presentar propiedades anti-VIH. La 3-O- β -D-glucósido de quercetina y la sciadopiticina tienen actividad diurética y antifúngica (126). Se informa también sobre la actividad inhibidora del extracto acuoso obtenido de la parte aérea de *T. huegelii*, sobre el efecto contráctil de NA en anillos de aorta aislada de la rata (AAAR) (127). En la Tabla 5 se enlistan algunos compuestos aislados de esta planta, su nombre común, especie química y de que parte de la planta se aisló (128-130).

Tabla 4. Partes de la planta con pruebas científicas de actividad biológica (131).

Parte estudiada	Disolvente	Actividad	Organismo de prueba
Parte aérea	Agua	Espasmolítica	Aorta de rata
Corteza	-	Inhibidor de catepsina B humana	Cultivo celular

Tabla 5. Compuestos químicos aislados de *T. huegelii* (131).

Nombre	Tipo de compuesto	Parte de la planta
Ácido 8, β -hidroxipimar-15-en-19-oico	Diterpenoide	Hojas y frutos
Ácido tánico	Ácido orgánico	Corteza y toda la planta
Amentoflavona	Biflavona	Hojas
3-O- β -D-glucósido de quercetina	Biflavona	Hojas
Criptomerina A	Biflavona	Corteza y toda la planta
Criptomerina B	Biflavona	Corteza y toda la planta
7,4-Dimetilamentoflavona	Biflavona	Hojas
Hinoquinflavona	Biflavona	Hojas
Isocriptomerina	Biflavona	Corteza y toda la planta
Nitrato de potasio	Sal inorgánica	Madera y hojas
Oxalato de calcio	Sal inorgánica	Madera y hojas
Podocarpusflavona A	Biflavona	Hojas
Sciadopitisina	Biflavona	Hojas
Silicato de sodio	Sal inorgánica	Madera y hojas
Sulfato de potasio	Sal inorgánica	Madera y hojas

1.3.4.2.4. Actividad farmacológica.

En cuanto a sus propiedades medicinales, el alquitrán de esta planta es antiséptico y posee la propiedad de anestesiar la mucosa de la boca, privándola del sentido del gusto hasta por una hora. A la resina, hojas y corteza se le atribuye varias propiedades medicinales. Por ejemplo, para padecimientos como la diarrea, hemorroides, hidropesía (132), problemas de tipo circulatorio, la resina se usa como astringente y cicatrizante para curar heridas, úlceras, enfermedades cutáneas, dolor de muelas, gota, dolores de cabeza y dolor de tipo reumático. La infusión de la corteza se usa como emenagogo y diurético. La infusión de las hojas se usa como resolutivo (133).

1.3.4.2.5. Efectos secundarios y contraindicaciones.

Se considera que el principio activo del ahuehuate carece de toxicidad; sin embargo, las personas especialmente sensibles pueden experimentar dermatitis por contacto (134).

1.4. Interacciones farmacológicas.

Las interacciones farmacológicas (IF) son un fenómeno que ocurre cuando el efecto de un fármaco es modificado por la administración previa o simultánea de otro. Algunas veces este tipo de interacciones son benéficas ya sea para incrementar su eficacia terapéutica y/o disminuir los efectos adversos de uno de ellos. Este tipo de interacciones también aplica para uso de un fármaco y un extracto de plantas medicinales, el cual, se utiliza frecuentemente con la creencia de que los extractos por ser “naturales” son inocuos. Sin embargo, esto no es del todo cierto, ya que los extractos pueden afectar la actividad terapéutica de los fármacos ya sea a nivel farmacocinético si surgen por una alteración en la absorción, distribución, metabolismo o excreción de cada uno de los medicamentos, o interacción farmacodinámica si existe un sinergismo (cuando el efecto aumenta) o un antagonismo en sus acciones (cuando el efecto disminuye). Las IF pueden provocar un beneficio en el efecto terapéutico o, al contrario, la aparición de reacción adversa al medicamento (135).

Actualmente en la clínica ha aumentado el uso interacciones entre fármacos pues se ha visto que, usando menor dosis de cada uno de ellos, se incrementa la eficacia reduciendo efectos adversos, por este motivo se han estado estudiando las interacciones entre fármacos sintéticos con fármacos de origen natural donde también se han visto efectos favorables (136, 137).

La combinación entre fármacos puede no interaccionar, produciendo cada uno de ellos el efecto farmacológico que le corresponde de forma independiente (efecto aditivo), o pueden interaccionar provocando un efecto diferente del esperado. Si este efecto es mayor que la suma de los efectos individuales, se produce un efecto supraaditivo o de potenciación y si el efecto es menor que la suma de los efectos individuales de los fármacos se produce un efecto subaditivo o de “antagonismo” (138).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En la actualidad, la inflamación es uno de los problemas más comunes que aquejan a las personas siendo una llamada de atención o alerta del cuerpo; sin embargo, la ampliación de ésta provoca daños a las células y tejidos, de modo que convendría estudiar nuevas alternativas o soluciones que la disminuyan o erradique sin producir efectos adversos.

Para combatir la inflamación, principalmente por sus efectos no deseados como el dolor, el tumor u otros, es común el uso de AINEs y GC, que son medicamentos que pueden ocasionar reacciones adversas, en el caso de los AINEs productores de efectos sobre la función gastrointestinal, cardiovascular y renal; y con respecto a los GC sobre la función endocrina y metabólica, músculo esquelética, inmunitaria, gastrointestinal, oftalmológica y del sistema nervioso central. Debido a esto, en la actualidad los tratamientos buscan disminuir los riesgos potenciando los beneficios y dentro de ellos encontramos alternativas terapéuticas como los productos naturales; dentro de estos se destaca el uso de plantas como alternativa o coadyuvante en los tratamientos. Tal es el caso del *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii* .esperando que solos y en combinación tengan un efecto potencial para nuevos tratamientos de dolor e inflamación.

3. HIPÓTESIS.

Los extractos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Taxodium huegelii* (ahuehuete) han mostrado tener efectos farmacológicos antiinflamatorios de forma independiente, por lo que se espera que su combinación resulte en un efecto farmacológico sinérgico o aditivo.

4. OBJETIVOS.

4.1.OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto antiinflamatorio de la combinación *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Taxodium huegelii* (ahuehuete) en un modelo de edema plantar inducido por la administración intraplantar de formalina al 1% en ratas Wistar en ambos sexos.

4.1.1. OBJETIVOS PARTICULARES.

- Preparar extractos etanólicos de las hojas de *R. officinalis* y *T. huegelii*.
- Evaluar el efecto antiinflamatorio a diferentes niveles de dosis de los extractos etanólicos utilizando el modelo experimental de inflamación de inducción de edema plantar con formalina al 1 % en ratas macho y hembra.
- Determinar la dosis efectiva 50 (DE₅₀) del extracto etanólico de *R. officinalis* y *T. huegelii* a partir de sus curvas dosis respuesta (CDR).
- Realizar combinaciones con ambos extractos y comparar su efecto antiinflamatorio con el fármaco de referencia meloxicam.

5. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1.1. EQUIPO.

- Evaporador rotatorio (BüchiR-210 con tina de baño caliente B-491).
- Balanza analítica (Ohaus Scout Pro).
- Balanza digital (Sartorius T series).
- Caja de Petri de vidrio.
- Mortero y pistilo de porcelana.
- Viales ámbar.
- Jaulas de polisulfonato (48 x 26.5 x 21 cm.).
- Rasuradora (Oster Golden A5).
- Jeringas para insulina 0.5 mL 31G x 8 mm (Terumo).
- Sondas gástricas de acero inoxidable 16G x 76mm.
- Pletismómetro (IITC LifeScience).
- Cámara de CO₂.

5.1.2. REACTIVOS.

- Etanol.
- Extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis*.
- Extracto etanólico de *Taxodium huegelii*.
- Carboximetilcelulosa (CMC) al 1%.
- Agua inyectable (PiSA[®]).
- Meloxicam (Flaxol MX[®]).
- Agua destilada.
- Detergente libre de sulfatos.

5.1.3. MATERIAL BIOLÓGICO.

Ratas de ambos sexos Wistar, de 4 a 5 semanas de edad, las hembras son nulíparas y no gestantes. Todas con un peso de 180-200 g. mantenidos a temperatura controlada de 22° +/- 2° C, humedad relativa del 40-70%, ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, agua y alimento *ad libitum*. Todo el protocolo experimental siguió las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999), y de los Lineamientos y Estándares Éticos para la

Investigación del Dolor Experimental en Animales, y fue aprobado por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química, UNAM (OFICIO/FQ/CICUAL/371-2/19).

5.1.4. MATERIAL VEGETAL.

Las plantas en estudio *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii* se recolectaron de Oaxaca, Oaxaca.

5.1.5. TAMAÑO DE MUESTRA.

El tamaño de muestra ($N \geq 6$ /grupo) fue calculado utilizando el programa G-power versión 3.1, garantizando que la potencia del estudio fuera mayor a 80%, (potencia obtenida 80%).

5.1.6. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES.

Los animales fueron aleatorizados para formar los grupos experimentales y se identificaron con números arábigos con plumones indelebles no tóxicos sobre la cola. Cada caja contenía de 3 a 5 animales y se les colocó una tarjeta con los datos correspondientes para llevar un registro adecuado.

5.1.7. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS.

Las hojas y flores se separaron del tallo, se colocaron en un frasco de vidrio al cual se le agregó etanol químicamente puro y se almacenó a temperatura ambiente, agitándolo todos los días por un lapso de 20 días para su maceración.

Cumplido ese tiempo, se filtró con un papel Whatmann para someterlo a un evaporador rotatorio a 40°C y de esa manera extraer el etanol. El producto final se dejó secar a temperatura ambiente.

5.1.8. PREPARACIÓN DEL PRODUCTO DE PRUEBA.

Para la correcta administración de los tratamientos, se tomó en cuenta el peso y volumen de administración requerido para la vía esofágica (p.o.), idealmente se usó un volumen de 0.1 mL/100 g. Con los datos de peso corporal y el volumen de administración se realizaron los cálculos correspondientes para el volumen que se le administró a cada animal. A partir de las dosis y el volumen de administración, se realizó el cálculo de las concentraciones que se prepararon y administraron a los animales. El vehículo usado consistió en CMC 1%.

El fármaco de prueba: meloxicam, se preparó a partir de una solución de 20 mg/mL y se realizaron las diluciones necesarias para la dosis de 10 mg/kg, la cual es la dosis más alta

efectiva y segura usada en roedores (139). Las soluciones se administraron siempre de reciente preparación.

5.1.9. GRUPOS EXPERIMENTALES.

Cada grupo experimental cuenta con una $n \geq 6$ animales para cada sexo. Los grupos control de cada sexo no recibieron ningún tratamiento ni se les indujo el edema plantar mientras que los animales del grupo vehículo recibieron CMC al 1% en agua inyectable.

En cuanto a los grupos tratamiento de las hembras recibieron la administración del extracto etanólico de *R. officinalis* en dosis de 10, 56.2, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/Kg p.o. y extracto etanólico de *T. huegelii* en dosis de 10, 31.62, 100, 300, 562.3 y 1000 mg/Kg p.o.

Los machos del grupo tratamiento recibieron la administración del extracto etanólico de romero en dosis de 10, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/Kg p.o. y de extracto de ahuehuate en dosis de 10, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/Kg p.o.

La combinación de los extractos se eligió a partir de las dosis con efectos menores al 50% obtenidas de las curvas dosis respuesta (CDR) individuales para cada extracto, quedando A300+R10 (donde A es ahuehuate y R es romero), A70+R30 y A50+R50 para hembras y A10+R100, A70+R30 y A50+R50 para machos. Comparando su efecto antiinflamatorio con el grupo meloxicam 10 mg/kg p.o.

5.1.10. ADMINISTRACIÓN DE LA DOSIS.

Una vez que se verificó que las ratas cumplían con el peso, se les realizó la evaluación de respuesta basal, posteriormente se administraron los tratamientos de manera aguda por vía p.o. usando una sonda gástrica previamente sanitizada, en los diferentes niveles de dosis antes mencionados para construir su respectiva CDR.

5.1.11. INDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR CON FORMALINA 1%.

Inmediatamente después de haber administrado los distintos tratamientos, se indujo el edema con una jeringa para insulina, la cual se introdujo en el inicio del cojinete de la extremidad posterior derecha y al final de éste (Fig. 9), se depositaron los 50 μ L de formalina al 1% para inducir la inflamación de la extremidad.



Figura 9. Administración intraplantar (i.pl.) de la formalina al 1% en la extremidad posterior derecha de la rata para producir edema.

5.1.12. MEDICIÓN DE LA EFICACIA ANTIINFLAMATORIA.

La medición de la eficacia antiinflamatoria se obtuvo al evaluar el desplazamiento de volumen en el pletismómetro. A todos los animales se les rasuró el miembro posterior derecho, donde se les marcó una línea horizontal a nivel del carpo con marcador indeleble no tóxico para que la medición fuera homogénea en todos los sujetos de prueba. Como se mencionó anteriormente, se midió su volumen basal antes de la administración del tratamiento y la inducción del edema, introduciendo la pata del animal en la vasija volumétrica donde se produjo un cambio en el nivel del líquido y el sensor detectó el volumen desplazado, una vez que se registró el desplazamiento de volumen de agua, la pata del animal se retiraba, obteniendo 6 registros consecutivos por animal (fig. 10). Este mismo procedimiento se realizó a los 30 y 120 minutos posteriores a la administración de los respectivos tratamientos.

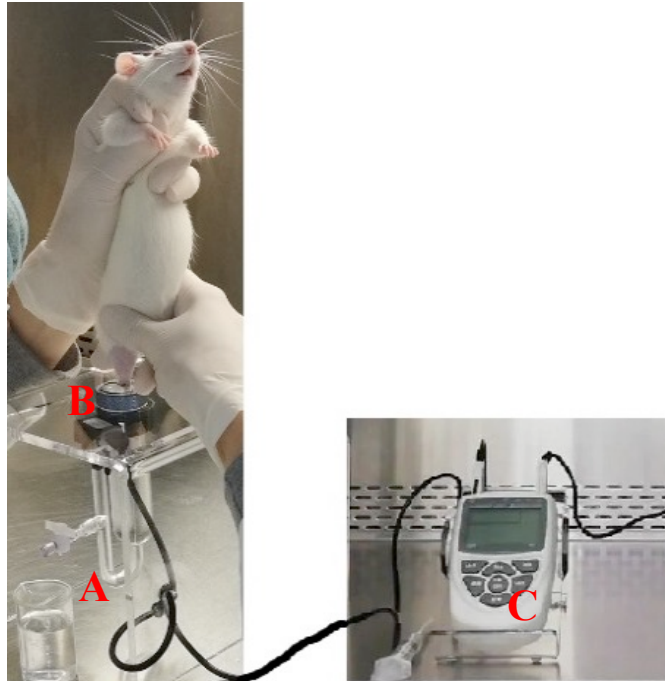


Figura 10. Esquema de la prueba del pleτισmómetro. En donde: A es la vasija volumétrica, B es el sensor y C es el dispositivo de registro.

5.1.13. PROCEDIMIENTOS TERMINALES.

Al final del experimento, se aplicó eutanasia a los animales del estudio en una cámara de CO₂, según lo descrito en el procedimiento normalizado de operación para la eutanasia de roedores de laboratorio.

5.1.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico se realizó haciendo uso del programa SigmaPlot 12.0. Los datos se presentan como la media \pm error estándar. Para los cursos temporales se consideró el basal de cada animal tomando 0 como punto inicial, a los 30 y 120 minutos se sacó la diferencia entre el volumen experimental y el volumen basal ($V_{Exp.} - V_{B.}$) con la finalidad de eliminar la variable peso y de esta manera comparar solo la diferencia de desplazamiento de volumen. Para determinar la diferencia de % de efecto antiinflamatorio entre los tratamientos se calculó el área bajo la curva (ABC) utilizando el método de los trapecios (140). El análisis estadístico de los cursos temporales, se realizó mediante la prueba análisis de varianza (ANADEVA) bidireccional de medidas repetidas para ahuehuate y ANADEVA de medidas repetidas por rangos en el caso de romero, para las CDR se realizó un ANADEVA de 1 vía. Y Tukey como prueba post-hoc.

Los datos se expresaron en curvas dosis-respuesta considerando sólo los puntos dentro de la ventana terapéutica (del efecto mínimo al efecto máximo obtenido en cada extracto probado), utilizando 3 diferentes modelos matemáticos (modelo de Hill, semi-logarítmico y lineal), ajustándose más éste último.

Las curvas dosis-respuesta se construyeron mediante regresión lineal; a partir de ellas se determinaron las DE_{50} para cada extracto. En cuanto a los resultados obtenidos de las combinaciones de machos y hembras, se analizaron mediante la prueba T-Student.

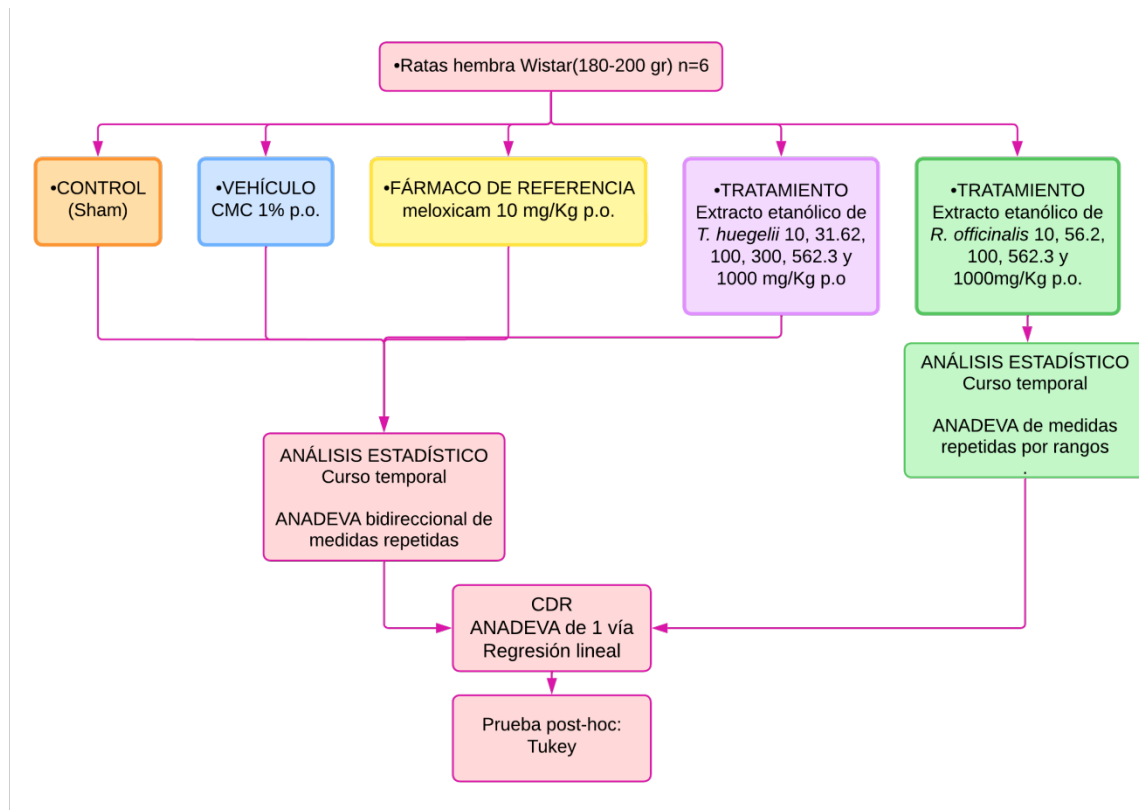


Figura 11. Diseño experimental de hembras en el modelo de edema plantar por formalina 1%. Donde carboximetilcelulosa al 1% (CMC1%); vía esofágica (p.o.); curva dosis respuesta (CDR); análisis de varianza (ANAEVA).

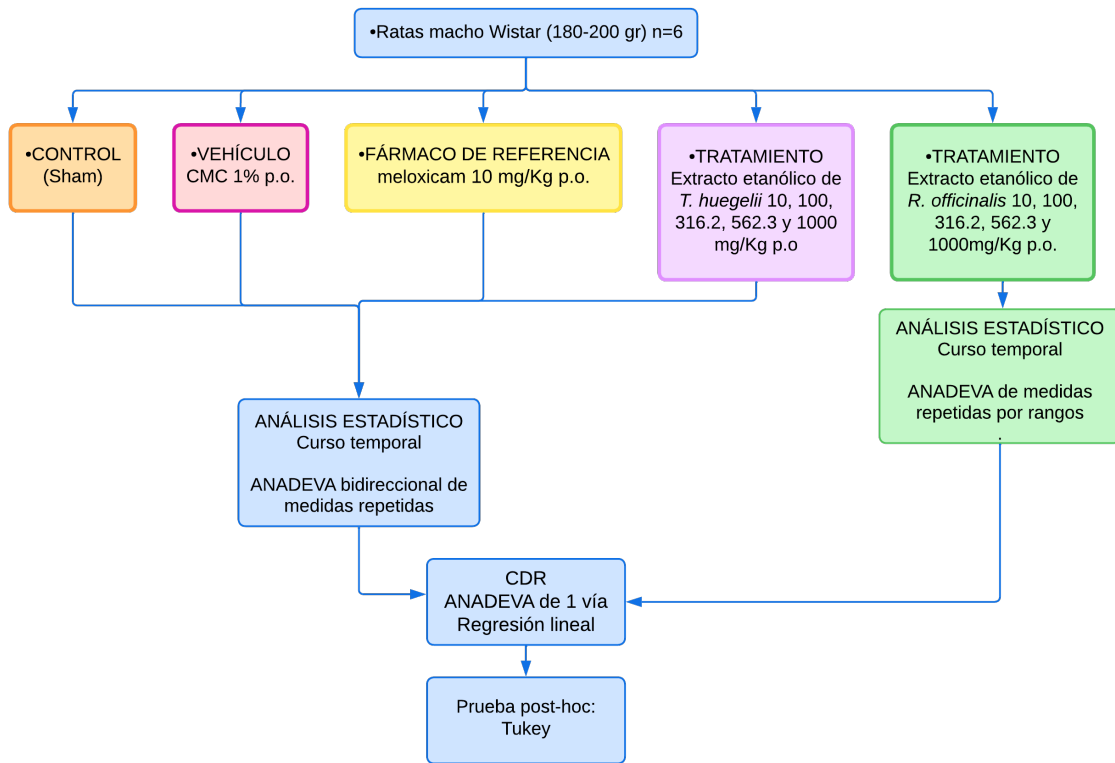


Figura 12. Diseño experimental de machos en el modelo de edema plantar por formalina 1%. Donde carboximetilcelulosa al 1% (CMC1%); vía esofágica (p.o.); curva dosis respuesta (CDR); análisis de varianza (ANAEVA).

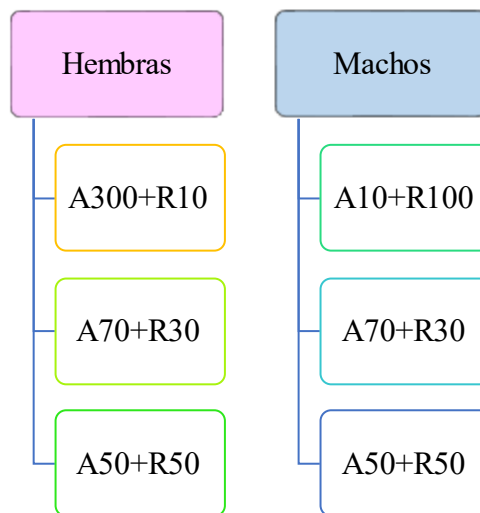


Figura 13. Combinaciones experimentales para machos y hembras en el modelo de edema plantar por formalina 1%, donde A es la dosis en mg/kg del extracto de ahuehuate y R es el extracto de romero administrados p.o.

6. RESULTADOS.

6.1. RATAS HEMBRA.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO

R. officinalis.

Se presenta el curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de romero a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$) para cada animal. Los animales tratados a dosis de 316.2 y 100 mg/kg (con un desplazamiento de 0.13 mL) producen el mayor efecto antiinflamatorio en comparación con el vehículo mostrando diferencias significativas a los 30 minutos, mientras que, a los 120 minutos, el fármaco de referencia meloxicam a dosis de 10 mg/kg (0.14 mL) muestra diferencia significativa en comparación con el vehículo (Fig.14).

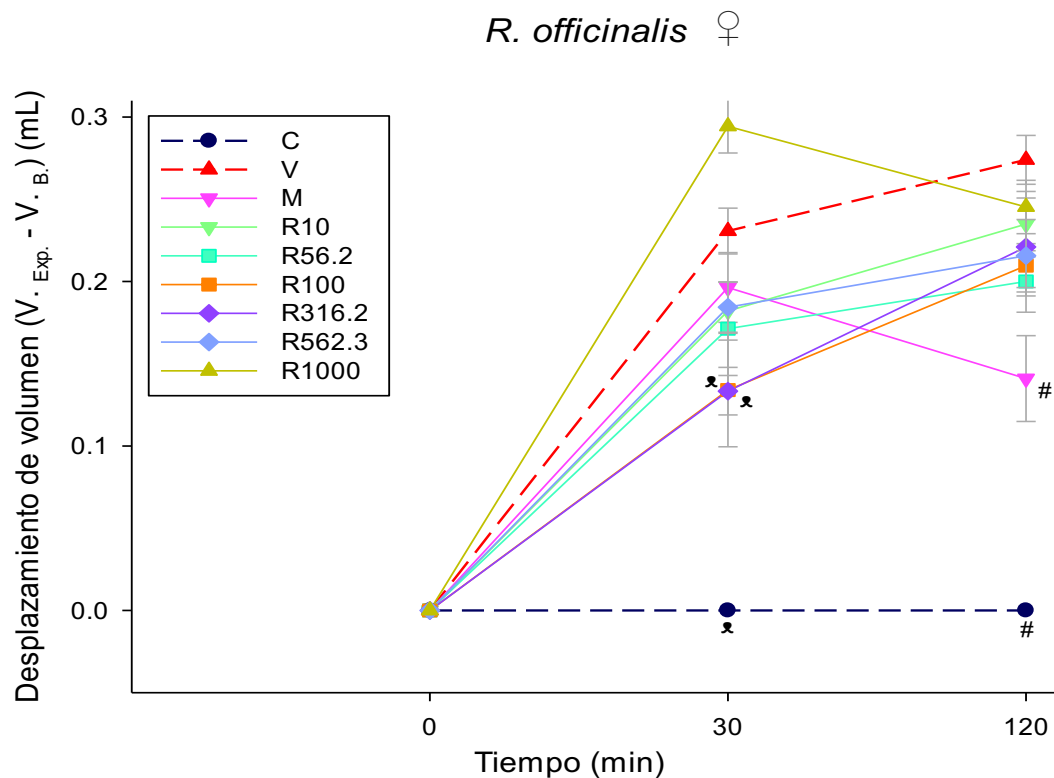


Figura 14. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *R. officinalis* en ratas hembra, a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{x} \pm EEM$ de 6 ratas Wistar hembras. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 316.2, 100 mg/kg y control *Vs.* vehículo. A los 120 minutos, # $p < 0.05$ meloxicam y control *Vs.* vehículo. ANADEVa de medidas repetidas por rangos seguida de Tukey.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO

T. huegelii.

Se presenta el curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de ahuehuete a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$), donde se observa que la dosis de 300 mg/kg muestra el mayor efecto antiinflamatorio en comparación con el vehículo a los 30 minutos (0.15 mL), efecto que se incrementa a los 120 minutos (0.09 mL). Siendo la dosis más cercana al grupo control.

A los 120 minutos las dosis 1000 (0.16 mL), 562.3 (0.16 mL) y 100 mg/kg (0.18 mL) del extracto, así como el fármaco de referencia meloxicam 10 mg/kg (0.14 mL) presentan un efecto antiinflamatorio, el cual es estadísticamente significativo en comparación con el grupo vehículo (Fig. 15).

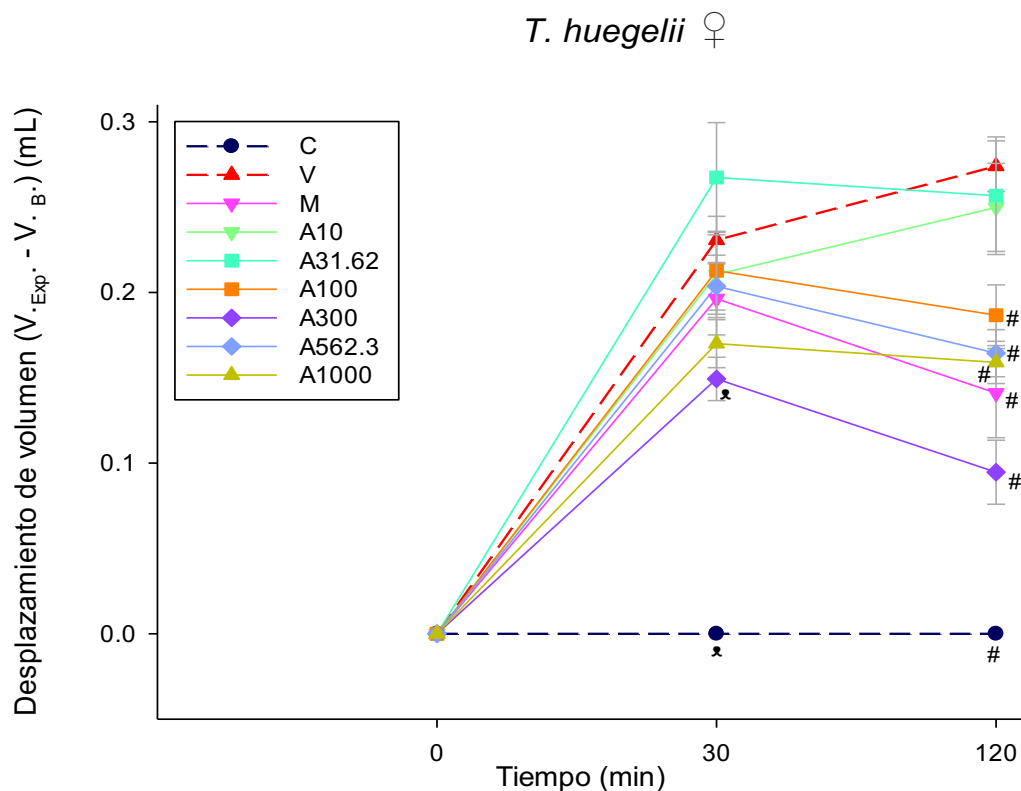


Figura 15. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *T. huegelii* a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{X} \pm EEM$ de 6 ratas Wistar hembras. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 300 mg/kg y control *Vs.* vehículo. A los 120 minutos # $p < 0.05$ 1000, 562.3, 300, 100 mg/kg, meloxicam y control *Vs.* vehículo. ANADEVa bidireccional de medidas repetidas seguida de la prueba de Tukey.

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS *R. officinalis* y *T. huegelii*.

Se presentan las CDR del efecto antiinflamatorio producido por los extractos etanólicos de romero y ahuehuete en comparación con el fármaco de referencia meloxicam, donde se observa que para romero éste es significativo a partir de la dosis de 100 mg/kg (67 %), efecto que al probar la dosis de 316.2 mg/kg (62.2 %) y 562.3 mg/kg (65 %) permanece sin cambio. Para el extracto etanólico de ahuehuete se observa un efecto que aumenta en proporción a la dosis, donde alcanza un efecto significativo a la dosis 562.3 mg/kg (63.4 %), al probar las dosis de 1000 mg/kg en ambos extractos el efecto decae.

Para el caso de meloxicam, se observa que la dosis de 10 mg/kg alcanza un efecto máximo de 47.6% mientras que este mismo efecto se obtiene para el romero a partir de la dosis 56 mg/kg (52.7%) y para el ahuehuete a partir de la dosis 316.2 mg/kg (50.3%) y como se explicó anteriormente, estos 2 extractos alcanzan un mayor nivel de efecto que el fármaco de referencia a las dosis recomendadas en animales (Fig. 16). La DE₅₀ para romero y ahuehuete resultaron ser 157.2 mg/kg y 328.31 mg/kg respectivamente.

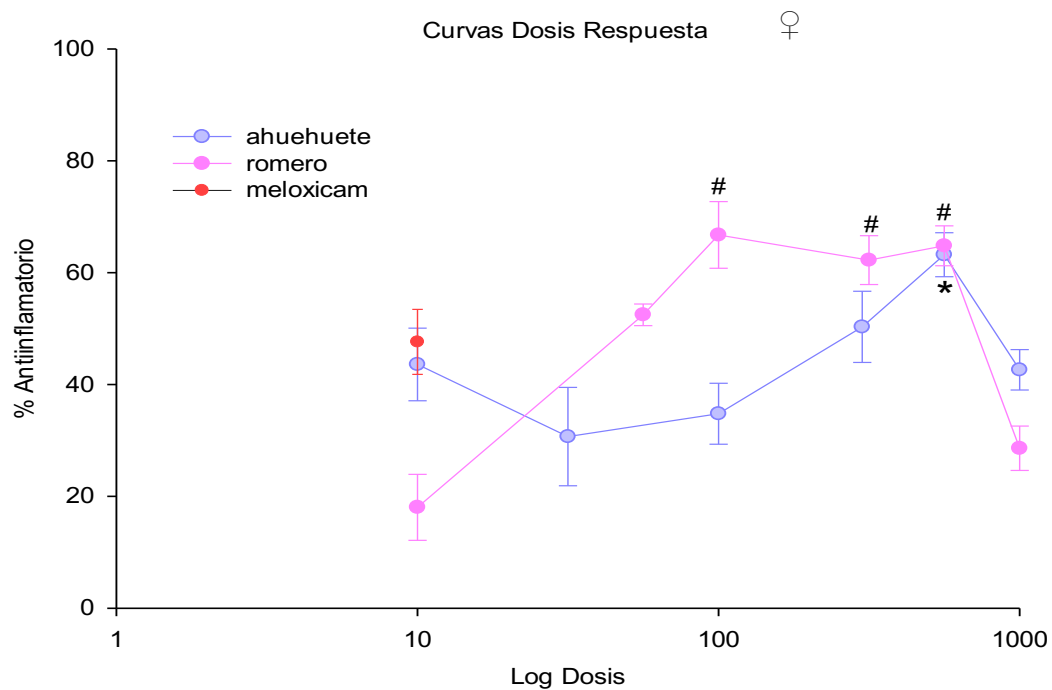


Figura 16. Curvas dosis respuesta del % de efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) p.o. y *T. huegelii* (ahuehuete) p.o. en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. Cada punto representa el \bar{X} del % de efecto antiinflamatorio \pm EEM de 6 ratas Wistar hembras. * $p < 0.05$ 562.3 Vs. vehículo; # $p < 0.05$ 562.3, 316.2 y 100 mg/kg Vs. vehículo. Prueba Tukey.

ADMINISTRACIÓN DE COMBINACIONES DEL EXTRACTO DE

R. officinalis y *T. huegelii*.

La dosis del extracto de *R. officinalis* y *T. huegelii* para las combinaciones fueron 10, 30 y 50 mg/kg y 50,70 y 300 mg/kg respectivamente. Las combinaciones se realizaron de la siguiente manera: A300/R10, A70/R30 y A50/R50 mg/kg p.o., (Fig. 17). El % efecto antiinflamatorio de las dosis teóricas se obtuvieron de la ecuación de regresión lineal obtenida de la CDR y estas dosis se compararon con las dosis experimentales.

La combinación A50/R50 mg/kg teórica tiene un efecto antiinflamatorio de 81.84% en comparación a su combinación experimental A50/R50E que tuvo un 45.30% de efecto antiinflamatorio siendo significativamente diferentes entre ellas.

La combinación experimental A70/R30 mg/kg (80.8%), muestra un % de efecto antiinflamatorio mayor que las otras dosis experimentalmente probadas, siendo equieficaz en comparación a su combinación teórica (77.3%).

Al comparar la respuesta antiinflamatoria experimental de las combinaciones con su suma teórica, para poder determinar sinergismo de tipo sub-aditivo, aditivo o supra-aditivo, las combinaciones A300/R10 y A70/R30 mg/kg causaron una respuesta de tipo aditiva y la combinación A50/R50 mg/kg arrojó una respuesta con efecto sinérgico sub-aditivo (Fig. 17).

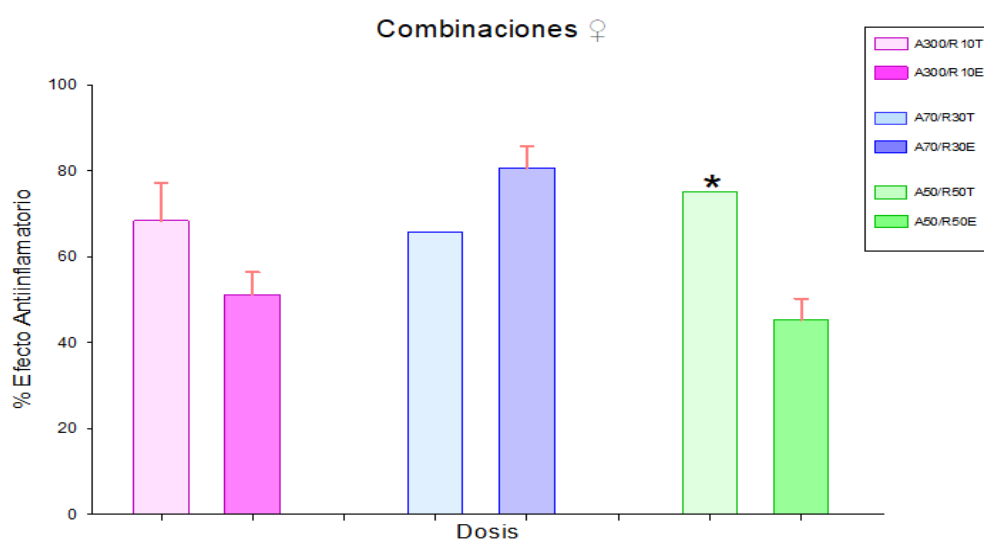


Figura 17. Efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) y *T. huegelii* (ahuehuete) p.o. en comparación a su suma teórica. Donde ahuehuete (A), romero (R), teórica (T) y experimental (E). Las barras representan el \bar{x} del % de efecto antiinflamatorio \pm EEM de al menos 6 repeticiones. * $p < 0.05$ A50/R50T mg/kg Vs. A50/R50E mg/kg. Seguida de la prueba T- Student.

6.2.RATAS MACHO.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO

R. officinalis.

Se presenta el curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de romero en ratas macho a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$), en donde las dosis de 316.2 mg/kg muestra un efecto antiinflamatorio a partir de los 30 minutos (0.09 mL) y disminuye a los 120 minutos (0.17 mL). La dosis de 10 mg/kg alcanza un efecto igual que el del grupo control a los 120 minutos, a este mismo tiempo, la dosis de 100 mg/kg (0.16 mL) muestra un efecto significativo en comparación con el grupo vehículo. En cuanto al fármaco de referencia meloxicam, no presentó resultados significativos en ninguno de los tiempos evaluados (Fig. 18).

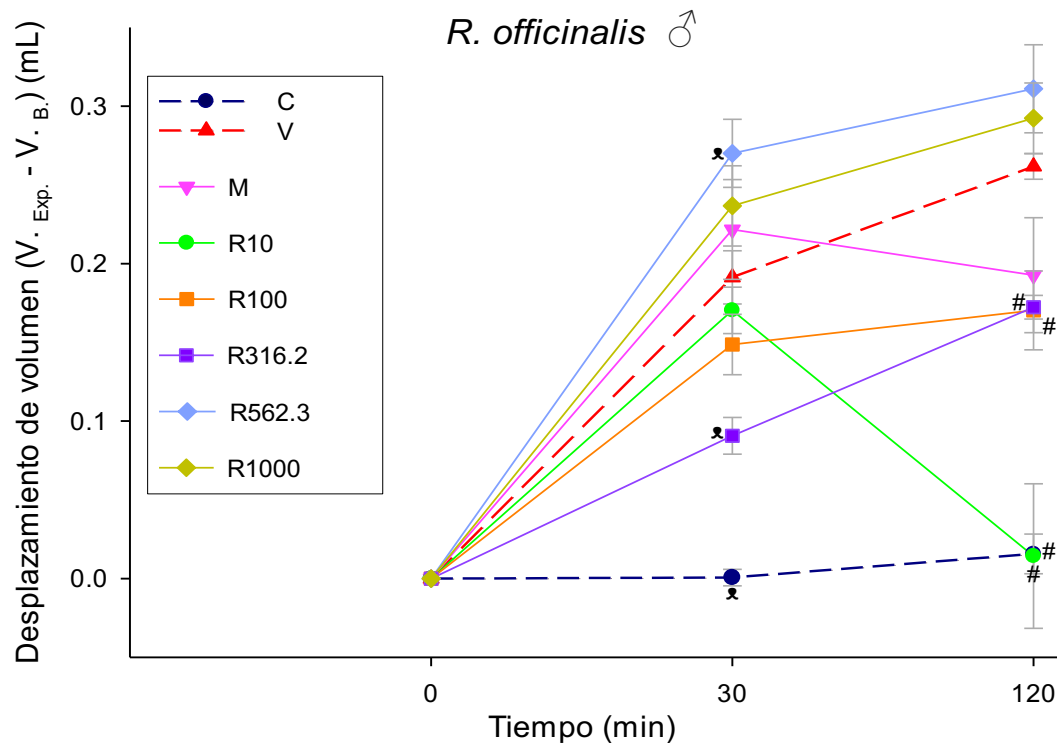


Figura 18. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *R. officinalis* a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{X} \pm EEM$ de 6 ratas Wistar machos. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 316.2 mg/kg y control *Vs.* vehículo. A los 120 minutos # $p < 0.05$ 316.2, 100, 10 mg/kg y control *Vs.* vehículo. ANADEVAs de medidas repetidas por rangos seguida de la prueba de Tukey.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO *T. huegelii*.

Se presenta el curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de ahuehuete a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$). Los animales tratados con la dosis 562.3 mg/kg (0.06 mL) presentaron mayor efecto significativo a los 30 minutos, efecto que se mantiene a los 120 minutos (0.10 mL) y en ambos tiempos tiende a tener efectos similares al del grupo control (Fig. 19).

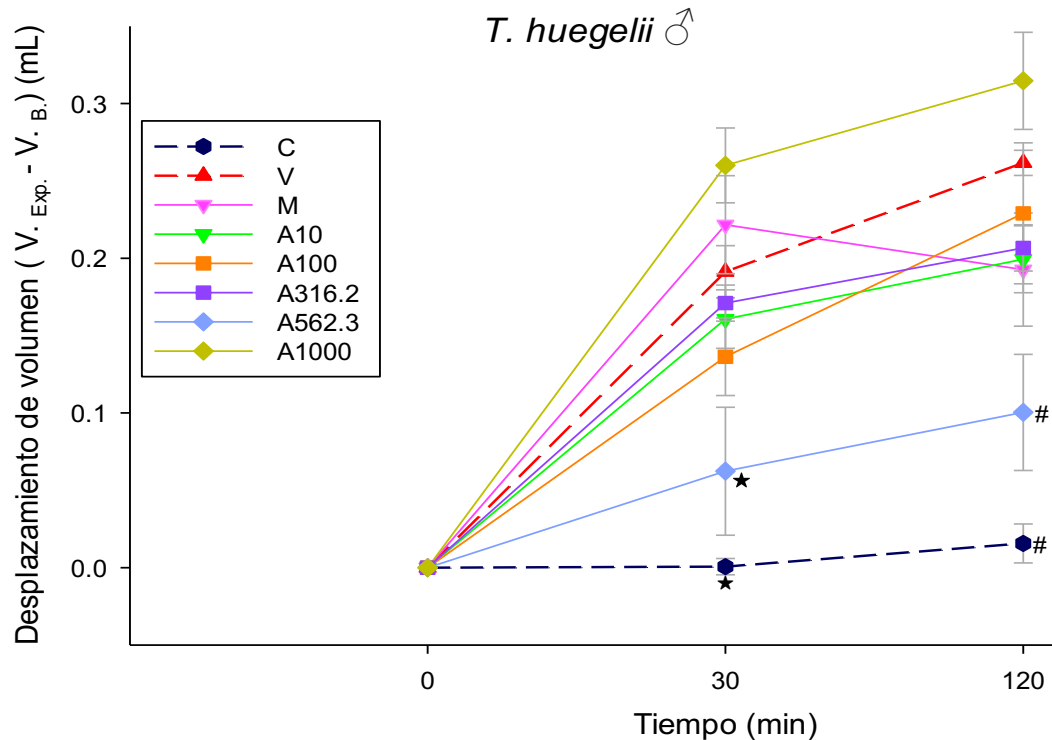


Figura 19. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *T. huegelii* a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp.} - V_{B.}$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% i.pl. (a menor desplazamiento de volumen, mayor efecto antiinflamatorio) en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. grupo control, además del vehículo. Cada punto representa el $\bar{x} \pm$ EEM de 6 ratas Wistar machos. A los 30 minutos * $p < 0.05$ 562.3 mg/kg y control *Vs.* vehículo y a los 120 minutos # $p < 0.05$ 562.3 mg/kg y control *Vs.* vehículo. ANADEVa bidireccional de medidas repetidas seguida de la prueba de Tukey.

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS *R. officinalis* y *T. huegelii*.

En la Fig. 20 se muestran las curvas dosis-respuesta del efecto antiinflamatorio producido por los extractos etanólicos de romero y ahuehuete en comparación con el fármaco de

referencia meloxicam en donde se observa que para romero éste es significativo para la dosis 316.2 mg/kg mientras que para ahuehuate es significativo a la dosis de 562.3 mg/kg, siendo estas dosis las responsables de producir el efecto máximo del 59.8% y 73.6%, respectivamente.

Al comparar con el efecto obtenido de meloxicam se observa que la dosis de 10 mg/kg alcanza un efecto máximo de 20.92 % mientras que este mismo efecto se obtiene para el romero y ahuehuate a partir de la misma dosis de 10 mg/kg.

Al probar la dosis de 562.3 mg/kg en romero y 1000 mg/kg en ahuehuate el efecto decae. La DE_{50} para romero y huehuate resultaron ser 266.01 mg/kg y 334.95 mg/kg respectivamente.

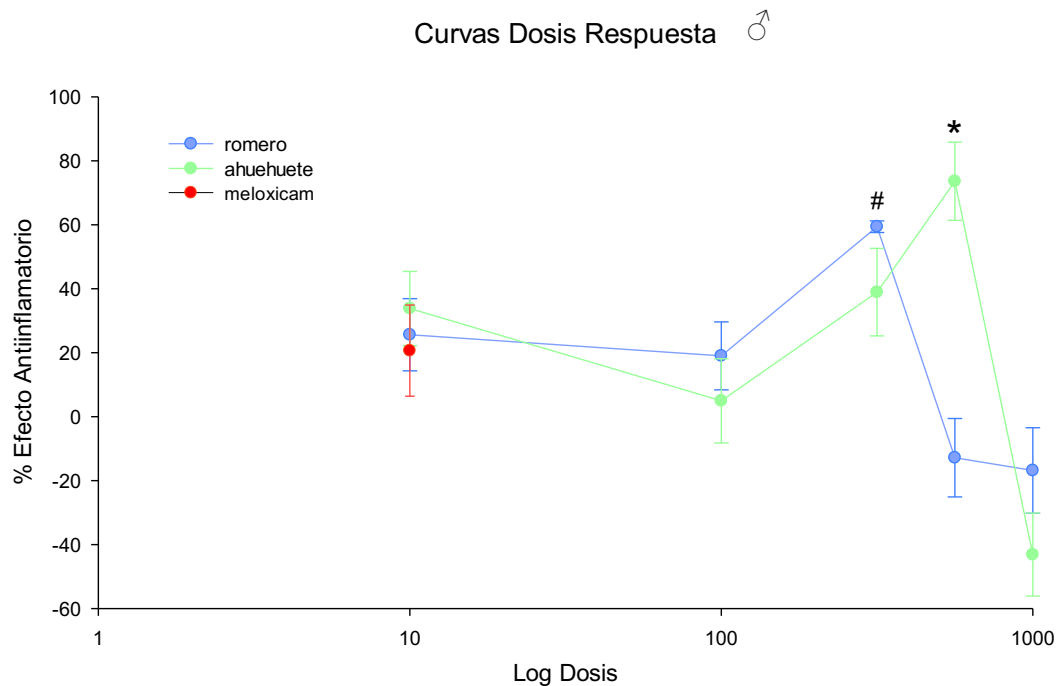


Figura 20. Curva dosis respuesta del % de efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) p.o. y *T. huegelii* (ahuehuate) p.o. en comparación con el fármaco de referencia meloxicam p.o. Cada punto representa el \bar{x} del % de efecto antiinflamatorio \pm EEM de 6 ratas Wistar machos. # $p < 0.05$ 316.2 mg/kg *Vs.* vehículo, * $p < 0.05$ 562.3 mg/kg *Vs.* vehículo. ANADEVa de 1 vía seguida de la prueba de Tukey.

ADMINISTRACIÓN DE COMBINACIONES DEL EXTRACTO DE *R. officinalis* y *T. huegelii*.

La dosis del extracto de romero y ahuehuate para las combinaciones fueron 30, 50 y 100 mg/kg y 10, 50 y 70 mg/kg respectivamente. Las combinaciones se realizaron de la

siguiente manera: A10/R100, A70/R30 y A50/R50 mg/kg p.o. (Fig. 21). Las dosis teóricas se obtuvieron de la suma del efecto arrojado experimentalmente de cada una de estas y se compararon con las dosis experimentales.

La combinación experimental A50/R50E mg/kg p.o. (61.9%) muestra diferencia significativa con el resto de las combinaciones experimentales A10/R100 (56.86%) y A70/R30 (12.3%) y con la suma teórica de esta misma dosis A50/R50T (50.4%), de tal manera que la dosis que tuvo un mayor % de efecto antiinflamatorio fue la dosis A50/R50E.

Al comparar la respuesta antiinflamatoria experimental de las combinaciones con sus sumas teóricas, las combinaciones A10/R100 y A50/R50 mg/kg teóricas produjeron un efecto de tipo aditivo al ser equieficaces con su resultado experimental, mientras que la dosis A70/R30 mg/kg teórica arrojó una respuesta sub-aditiva al ser significativamente diferente a su suma experimental (Fig.21).

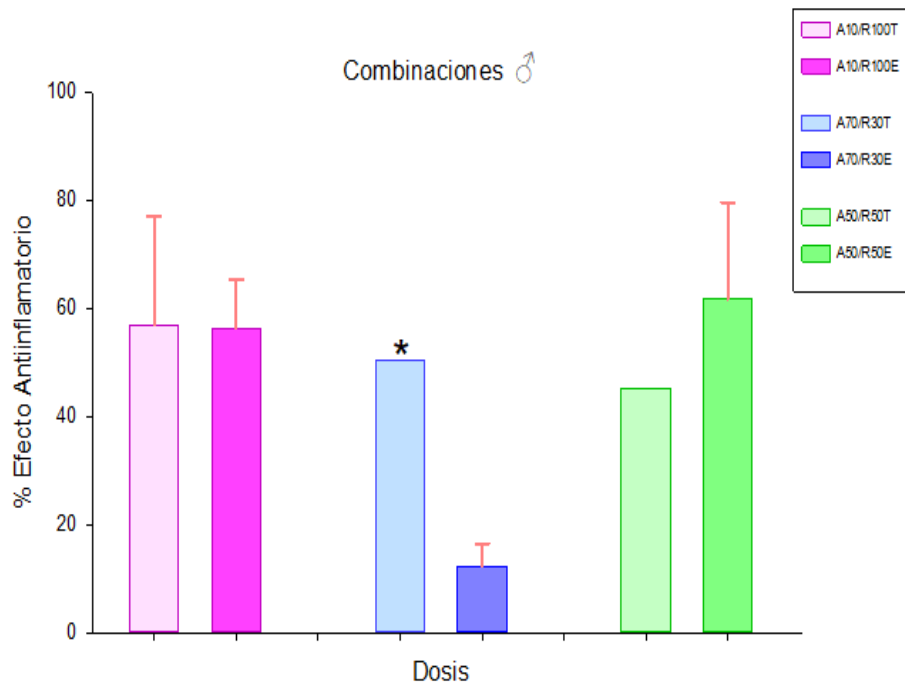


Figura 21. Efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) / *T. huegelii* (ahuehuete) p.o. en comparación a su suma teórica. Donde ahuehuete (A), romero (R), teórica (T) y experimental (E). Las barras representan el \bar{x} del % de efecto antiinflamatorio \pm EEM de al menos 6 animales. * $p < 0.05$ A70/R30T Vs. A70/R30E. Seguida de la prueba T-Student.

7. DISCUSIÓN.

En este trabajo se dio a la tarea de probar y demostrar los efectos antiinflamatorios del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii* administrados solos y en combinación. El romero es una planta de la cual ya se han reportado sus efectos antiinflamatorios. Sin embargo, hasta el momento, no se tiene evidencia científica respecto a las propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias del ahuehuete, así como la interacción de estos extractos.

La respuesta inflamatoria se evaluó con ayuda del equipo pletismómetro, el cual, mide los pequeños cambios en el volumen del agua, es decir, el desplazamiento de agua producido por la inmersión de la pata, antes y después de la inducción inflamatoria. La importancia de este equipo principia en detectar posibles propiedades antiinflamatorias de las sustancias de prueba.

Los resultados experimentales dan evidencia de que, la administración aguda del extracto de romero en hembras produce una respuesta antiinflamatoria significativa a los 120 minutos a partir de la dosis de 100 mg/kg. En machos se observó un efecto significativo a partir de la dosis de 10 mg/kg, en donde, a la dosis de 316.2 mg/kg este efecto se mantiene después de 2 horas de haber sido administrado. En ambos sexos el efecto antiinflamatorio decae a partir de la dosis de 562.3 mg/kg. Al analizar nuestros resultados, en hembras fue necesario aumentar la dosis a 100 mg/kg para alcanzar un efecto antiinflamatorio significativo, mientras que, en machos esta eficacia antiinflamatoria se obtuvo a partir de la dosis de 10 mg/kg, donde alcanzó un efecto similar al grupo control sano. Estos resultados concuerdan con un estudio en el cual se evaluó el efecto antiinflamatorio en un modelo de inflamación local con edema inducido por carragenina al 1%, en ratas Wistar macho en dos diferentes dosis de extracto metanólico de romero (10 y 25 mg/kg) vía p.o., en donde se obtuvo la máxima respuesta terapéutica con la dosis de 25 mg/kg (141).

Se ha puntualizado que el extracto acuoso de romero tiene un marcado efecto analgésico a la dosis de 35, 70 y 100 mg/kg. administrado vía p.o. “*ad libitum*” en ratas Wistar macho utilizando un modelo de formalina al 5%, en el cual observaron la disminución en el número de sacudidas de la pata de la rata por 60 minutos (142). En un artículo posterior, con el mismo modelo, encontraron una remisión de las interleucinas IL-6 e IL-9 proporcional con el incremento de la dosis del extracto acuoso de romero (66).

Incluso en modelos de dolor crónico, en donde se evalúa el dolor neuropático también se ha visto el efecto antiinflamatorio del romero, por ejemplo, se investigaron los posibles efectos antiinflamatorios del extracto etanólico de las partes aéreas de romero en un modelo de dolor neuropático inducido por lesión por constricción crónica de nervio ciático en ratas Wistar macho, evaluaron el efecto de la administración del extracto vía intraperitoneal (400 mg/kg) desde el día 1 al día 14 post quirúrgicos, tomando en cuenta la expresión de marcadores inflamatorios espinales (NO, COX-2, IL-1 β , PGE-2 y MMP2), los resultados de este estudio muestran propiedades antiinflamatorias mediante la regulación a la baja de los marcadores antes mencionados del día 7 al día 14, mientras que, para el control negativo tratado con solución salina estos marcadores fueron en aumento (143).

Otros autores, identificaron y extrajeron los principales metabolitos, los cuales se asocian al efecto analgésico y antiinflamatorio del extracto de romero, como el ácido rosmarínico, alcanfor, ácido cafeico, ácido ursólico, ácido carnósico, carnosol mediante hidrodestilación (106), resultados similares han sido reportados en un estudio donde realizaron el análisis fitoquímico del extracto acuoso de esta planta, mismos que arrojan presencia de compuestos terpénicos y terpenoides, además de flavonoides y alcaloides (144). Y se sabe que los principales mecanismos de acción para su efecto antiinflamatorio es el mecanismo sinérgico de sus metabolitos aislados que actúan inhibiendo sustancias pro inflamatorias (112) además de la inhibición de la migración leucocitaria al sitio de inflamación (145).

Con respecto a los resultados obtenidos al evaluar el extracto de *Taxodium huegelii*, en hembras, la dosis de 300 mg/kg tiene un efecto significativo respecto al grupo vehículo a partir de los 30 minutos después de haber administrado el agente irritante, y su efecto se mantuvo en el transcurso de 2 horas, en el caso de machos fue a la dosis de 562.3 mg/kg que se obtuvo un efecto significativo a los 30 minutos y se mantuvo así durante 120 minutos. Tanto en hembras como en machos, el efecto significativo duró hasta los 120 minutos post-administración con una eficacia cercana al grupo control negativo.

Hasta ahora, la evidencia científica que demuestra la eficacia antiinflamatoria del ahuehuate es limitada, algunos padecimientos relacionados con su aplicación son hemorroides y varices (146). Respecto a la actividad antiinflamatoria en modelos animales, autores determinaron su actividad antiinflamatoria de manera preventiva y correctiva, con el modelo de edema auricular por aceite de crotón al 5% en ratones macho, aplicando como

tratamiento el extracto metanólico de ahuehuate (50 mg/g) en gel. En donde el extracto obtuvo un 17 % de efecto antiinflamatorio en comparación a su fármaco de referencia betametasona, obteniendo 34.25 % de efecto antiinflamatorio (147). Los autores destacan que un fármaco se encuentra en estado puro y un extracto no, ya que puede contener más metabolitos secundarios que pueden interferir en su efectividad.

En otra investigación, se determinaron los metabolitos secundarios presentes en el extracto de ahuehuate en la fase polar mediante diferentes pruebas, sus resultados arrojaron que contiene alcaloides, flavonoides y saponinas (147). Resultados similares han sido obtenidos aislando de hojas y ramas, flavonoides como amentoflavona, podocarpusflavona A y 4, 7-dimetilamentoflavona (148). Siendo los flavonoides, los metabolitos a los que se les ha atribuido el efecto antiinflamatorio. La amentoflavona modula la expresión de NF-Kb (149) e interviene en los niveles de COX-2 (123) y bradicininas (121).

Los resultados obtenidos en este estudio se compararon con meloxicam, un fármaco que ha sido probado mundialmente como tratamiento para diversas enfermedades dolorosas e inflamatorias, pues combina eficacia con un nivel de tolerancia aceptable (150). Nuestros resultados confirman la actividad antiinflamatoria del meloxicam, demostrando que, en hembras, administrado a la dosis recomendada de 10 mg/kg alcanza un nivel de significancia de apenas el 47.92% respecto al extracto de romero a dosis de 100 mg/kg, el cual es más eficaz, alcanzando 67% de efecto antiinflamatorio. Para el extracto de ahuehuate se obtuvo un efecto similar al del extracto de romero a la dosis 562.3 mg/kg con 63.4% de efecto antiinflamatorio.

Por otro lado, el meloxicam presenta la misma potencia y eficacia que ambos extractos en machos con un 20.92% de efecto a la dosis de 10 mg/kg, cabe destacar que, al aumentar la dosis del extracto de ahuehuate a 562.3 mg/kg es más eficaz con un 73.6 % de efecto antiinflamatorio siendo muy similar al obtenido por el romero a dosis de 316.2 mg/kg que alcanza un efecto de 59.8%.

En el modelo de hiperalgesia térmica e inflamación, ambos inducidos por la administración intraplantar de carragenina en ratas Wistar macho, se administró meloxicam vía p.o. a una dosis mayor (32 mg/kg), demostrando que el efecto antiinflamatorio es dependiente de la dosis. A la dosis de 10 mg/kg desplazó al menos 0.25 mL respecto a su control positivo al evaluarlas durante 2 h (139). Estos resultados se asemejan a los obtenidos en esta

investigación en las ratas macho. Respecto a el efecto de meloxicam en ratas hembra, no hay estudios que demuestren su efecto antiinflamatorio por edema plantar. Se han realizado estudios en otras especies, demostrando que en vacas Holstein en periodo de gestación, no lactantes, la administración de meloxicam a dosis de 0.5 mg/kg durante 4 días seguidos, atenuó a los neutrófilos polimorfonucleares disminuyendo el proceso inflamatorio al igual que lo obtenido en este trabajo (151).

En otros estudios se ha probado que el meloxicam a dosis mayores (4-30 mg/kg) tanto en hembras como en machos se han observado efectos antiinflamatorios, pero asociados a efectos adversos por ejemplo se han visto hemorragias (152) (153), daño a mucosa gástrica (152), hepatotoxicidad (154-156) y daño en riñón (154).

Se cree que la inflamación es uno de los principales factores de dolor post quirúrgico, es por esto que, se ha evaluado la actividad antiinflamatoria y analgésica del meloxicam en ratones BALB/c macho, vía subcutánea previo a una laparotomía, concluyendo que no controla el dolor, pero tanto a las 7 como a las 24 horas previene significativamente la inflamación post laparotomía a dosis de 5 y 20 mg/kg (157).

Para que el fármaco de referencia alcance una eficacia igual a la obtenida por el extracto de ahuehuate o romero en machos es necesario aumentar la dosis máxima permitida de este fármaco al menos 3 veces, recordando que al aumentar las dosis podemos observar efectos adversos en los animales. Así como se demuestra en ratas Wistar macho administrando meloxicam vía p.o. a dosis de 4 y 8 mg/kg durante 28 días, después de este tiempo realizaron la necropsia encontrando que en los animales tratados con dosis de 8 mg/kg, las lesiones (úlceras y hemorragias) en el tracto gastrointestinal eran más severas que en los animales administrados con la dosis de 4 mg/kg, también encontraron congestión renal bilateral, enteritis catarral y hepatotoxicidad (153). Sus resultados concuerdan con lo obtenido en ratas Wistar de ambos sexos, administrando meloxicam a dosis de 15 mg/kg vía p.o. con previo ayuno de 12 horas, después de 9 h post-administración realizaron la necropsia encontrando daño en la mucosa gástrica, incluyendo sangrado y ulceración (152).

El incremento de las reacciones adversas y los efectos secundarios de los medicamentos antiinflamatorios han estimulado la búsqueda de nuevos principios activos con mayores niveles de efectividad e inocuidad (158). Si bien, en este trabajo no se realizó la evaluación toxicológica del extracto de romero ni de ahuehuate, se ha demostrado que el extracto

hidroalcohólico de las hojas de *Senna alata* (L.) Roxb en ratas Holtzman hembra tuvo mejor efecto antiinflamatorio que la betametasona y en ratones BALB/c de ambos sexos no presentó signos de toxicidad (65). Otro ejemplo de extracto hidroalcohólico con propiedades antiinflamatorias es el de las hojas de *Oenothera rosea* A. en ratas Holtzman a dosis repetidas con efecto similar al del diclofenaco y no muestra efectos tóxicos a las dosis probadas (159).

En la clínica se usa comúnmente la combinación de fármacos, de las cuales se busca entre otras cosas reducir las dosis individuales para mejorar la eficacia terapéutica, aumentar la tolerancia al tratamiento, disminuir sus efectos adversos y prevenir la resistencia a estos productos.

En este proyecto la administración conjunta de ambos extractos etanólicos a dosis A300/R10 mg/kg (donde A es ahuehuate y R es romero), A70/R30 en hembras y A10/R100, A50/R50 en machos produjeron un efecto antiinflamatorio de sinergismo aditivo similar a la administración de los extractos individuales a mayor dosis. En las dosis A50/R50 mg/kg en hembras y A70R30 en machos se obtuvo sinergismo antagónico.

Otros autores han investigado otras combinaciones de extractos efectivas como lo reportado en un modelo de edema intraplantar en ratones macho Swiss albino, en donde evaluaron la asociación de extractos etanólicos *Xantium spinosum* L. y *Urticaurens* L. administrados vía p.o. a dosis de 0,75 g/kg respectivamente, produjeron un efecto antiinflamatorio similar a la administración de los extractos individuales a mayor dosis (160).

En un modelo de edema plantar inducido por carragenina, evaluaron la actividad antiinflamatoria de la combinación de extractos etanólicos de hojas de *Stevia rebaudianabertoni* y *Trigonellafoenum-graecum* en ratas Wistar macho administrados vía p.o. a concentración de 200 mg/kg y 400 mg/kg, y observaron que la asociación de estos extractos cada uno al 50%, tiene mayor efecto antiinflamatorio que su administración individual, el cual es mayor a dosis de 200 mg/kg (161).

Incluso, en un modelo *in vitro* de glóbulos blancos estimulados por lipopolisacáridos se demostró que la combinación del extracto acuoso de *Ganodermalucidum* de Malasia y el extracto etanólico de *Chlorella vulgaris* egipcia ejerce actividad antiinflamatoria altamente sinérgica al modular la expresión negativa de iNOS, COX-2 y FNk-B (162).

Los resultados de este estudio tienen evidencia de que el extracto de romero y ahuehuate tiene efecto antiinflamatorio, que se puede vincular a los compuestos aislados mencionados anteriormente y al combinarlos en las dosis A300/R10, A70/R30 y A10/R100 y A50/R50 para hembras y machos respectivamente, en las cuales se obtuvo un efecto aditivo, existiendo una mejora en el nivel de eficacia a menor dosis en cada una.

8. CONCLUSIÓN.

Los resultados obtenidos en este estudio permiten observar el efecto antiinflamatorio que posee el extracto de *R. officinalis* y *T. huegelii* en comparación con meloxicam en situación de dolor inflamatorio, Lo anterior debido a que el efecto antiinflamatorio se probó en el modelo de edema plantar causado por formalina al 1%. Por lo que las conclusiones son las siguientes:

- Se demuestran las propiedades antiinflamatorias del extracto etanólico de las hojas de *R. officinalis* y *T. huegelii* administrados individualmente para el tratamiento de dolor de tipo inflamatorio en un intervalo de dosis 10 a 562.3 mg/kg para hembras.
- Se demuestran las propiedades antiinflamatorias del extracto etanólico las hojas de *R. officinalis* en un intervalo de dosis 10 a 316.2 mg/kg y de las hojas de *T. huegelii* en un intervalo de 10-562.3 mg/kg administrados vía esofágica.
- En hembras se demuestra que las dosis individuales con mayor efecto antiinflamatorio del extracto de *R. officinalis* son 100, 316.2 y 562.3 mg/kg y para *T. huegelii* es la dosis de 562.3 mg/kg.
- En machos se demuestra que la dosis individual con mayor efecto antiinflamatorio del extracto de *R. officinalis* es 316.2 mg/kg y para el extracto de *T. huegelii* es 562.3 mg/kg.
- Se demuestra que en hembras y machos los extractos de *R. officinalis* y *T. huegelii* a producen un efecto igual al del meloxicam.

- Se probó que al combinar los extractos de *R. officinalis* y *T. huegelii* mejoró la eficacia de sus dosis individuales. En el caso de hembras las combinaciones que lo demuestran son A70/R30, A300/R10 y para machos A10/R100, A50/R50.

9. PERSPECTIVAS.

- Caracterización e identificación de los compuestos activos contenidos en el extracto de las hojas de *R. officinalis* y *T. huegelii* para la búsqueda de sus mecanismos de acción.
- Estudios farmacocinéticos para evaluar biodisponibilidad del extracto de *R. officinalis* y *T. huegelii*.
- Probar los extractos a diferentes dosis individuales y en combinación de los extractos de *R. officinalis* y *T. huegelii* en modelos inflamatorios crónicos.
- Pruebas de toxicidad de ambos extractos para evaluar efectos adversos en modelos inflamatorios agudos y crónicos.

10. REFERENCIAS.

1. International Association for the Study of Pain (IASP) Taxonomy [Internet]. 2012. Available from: <https://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698&navItemNumber=576>.
2. Schwartz SI. Principios de cirugía. Séptima Edición ed. México; 1999.
3. Barbero MPR. ¿Qué es el umbral del dolor? Dolor Investigación Clínica & Terapéutica. 2014;29(4):141-5.
4. Camps MT, Amat GM. Cambios de comportamiento asociados al dolor en animales de compañía 2013.
5. INEGI. Población total [Available from: <https://www.inegi.org.mx/temas/estructura/>].
6. Harstall C, Ospina M. How prevalent is chronic pain. Pain clinical updates. 2003;11(2):1-4.
7. Tsang A, Von Korff M, Lee S, Alonso J, Karam E, Angermeyer MC, et al. Common chronic pain conditions in developed and developing countries: gender and age differences and comorbidity with depression-anxiety disorders. The journal of pain. 2008;9(10):883-91.
8. Van Hecke O, Torrance N, Smith BH. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. British journal of anaesthesia. 2013;111(1):13-8.
9. Fox SM. Pain management in small animal medicine. 1a ed. ed. Florida, Estados Unidos 2014. 416 p.
10. Forniés AL, de Diego FIG, Sierra MC, de Landázuri JGO. Concepto de dolor. Tratado de geriatría para residentes Capítulo. 2007;71:721-31.
11. Bonica JJ. Definition and taxonomy pain. The management of pain. 1990:18-27.
12. del Arco J. Curso básico sobre dolor. Tema 1. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. Farmacia Profesional. 2015;29(1):36-43.
13. Puebla Díaz F. Tipos de dolor y escala terapéutica de la OMS: Dolor iatrogénico. Oncología (Barcelona). 2005;28(3):33-7.
14. Moreno C, Prada DM. Fisiopatología del dolor clínico. Guía neurológica. 2004;3:9-21.

15. Timoneda FL. Definición y clasificación del dolor. Clínicas urológicas de la complutense. 1995(4):49.
16. Santos FI, Zarza-Luciáñez D. Introducción al dolor para el dentista general: enfoque clínico. Gaceta dental: Industria y profesiones. 2010(210):100-21.
17. Conn PM. Conn's translational neuroscience. 2017.
18. Borge MJN. Funciones sensoriales: sistema somatosensorial Universidad de Cantabria: OpenCourseWare; [Available from: <https://ocw.unican.es/mod/page/view.php?id=541>].
19. Fernández-Tresguerres JA. Fisiología humana. 3a ed2005.
20. Reyes García JG. Actividad antinociceptiva de las vitaminas B1,B6 y B12 solas o en combinación con diclofenaco sódico en modelos de dolor inflamatorio: Instituto Politécnico Nacional; 2003.
21. Villalobos AIC. Evaluación farmacológica del efecto antinociceptivo de *Annona diversifolia* Saff: Universidad Nacional Autónoma de México; 2009.
22. Cervero F, Laird JM. Visceral pain1999. 2145–8 p.
23. Ferrandiz M. Fisiopatología del dolor. Unidad del dolor Hospital de la Santa Creu Barcelona. 2003.
24. Maunuksela EL, Olkkola KT, Korpela R. Measurement of pain in children with self-reporting and behavioral assessment. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1987;42(2):137-41.
25. Cerveró F. Avances en el conocimiento de la fisiopatología del dolor.
26. Colorado Sarmiento BE, Escalante Rodríguez EY, Ramírez Quintanilla SB. “Evaluación de los efectos analgésicos de pregabalina previo a cirugía en el tratamiento del dolor neuropático para potenciar el umbral del dolor y reducir la dosis de opioides posoperatorios en pacientes Asa II de 20 a 50 años de edad a las cuales se les realizará histerectomía abdominal total bajo anestesia general en el Hospital Nacional de la Mujer “Dra. Maria Isabel Rodriguez” en el periodo de julio de 2018”. El Salvador: Universidad Nacional de El Salvador; 2018.
27. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall W, LaMantia A-S, White L. *Neurosciences: De Boeck Supérieur*; 2019.

28. Campero SM. ¿Es posible objetivar el dolor? *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2014;25(4):602-9.
29. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of neural science*. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division; 2000.
30. Mach MF. *Fisiopatología del dolor*. Unidad del dolor Hospital de la Santa Creu Barcelona. 2003.
31. Suárez E. fibromialgia: ¿Entidad en sí misma o forma oculta de la depresión? *Actualización en Psicofarmacología*. 2012:93.
32. Barreno PG. Inflamación. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 2008;102(1):91-160.
33. Chen M, Wang J. Programmed cell death of dendritic cells in immune regulation. *Immunological reviews*. 2010;236(1):11-27.
34. Arthington J, Qiu X, Cooke R, Vendramini J, Araujo D, Chase C, Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2007. *Cellular and Molecular Immunology* 6th ed. WB Saunders Co. Philadelphia (PA). p. 294-295. Anglen, CS, ME Truckenmiller, TD Schell, and RH Bonneau. 2003. The dual role of CD8+ T lymphocytes in the development of stress-induced herpes simplex encephalitis. *J. Neuroimmunol*. 140: 13-27. *Mitigation of Bovine Respiratory Disease Complex: Interactions of Physiology, Immunology, Nutrition and Management*. 2011;31:27.
35. Serhan CN. Novel lipid mediators and resolution mechanisms in acute inflammation: to resolve or not? *The American journal of pathology*. 2010;177(4):1576-91.
36. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system*. Saunders. Elsevier Philadelphia, PA, USA;; 2010.
37. García NX. Enfermedades inflamatorias y autoinmunes sistémicas: ¿son muy comunes? 2020 [Patricia Pujante Crespo:[Available from: <https://www.topdoctors.es/articulos-medicos/enfermedades-inflamatorias-y-autoinmunes-sistemicas-son-muy-comunes>].
38. Okin D, Medzhitov R. Evolution of inflammatory diseases. *Current Biology*. 2012;22(17):R733-R40.
39. Ruiz Remolina L. *La endoglina de membrana y la endoglina soluble modulan la respuesta inflamatoria*. Salamanca: Universidad de Salamanca; 2018.

40. Robledo VGB. *Inmunología para el médico general*. Facultad de Medicina UNAM. 2008;51(6).
41. García de Lorenzo MA, López MJ, Sánchez CM. Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. *Med intensiva*. 2000;24(8):353-60.
42. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic Immunology E-Book: Functions and Disorders of the Immune System*: Elsevier Health Sciences; 2019.
43. Zhou B-BS, Elledge SJ. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature*. 2000;408(6811):433-9.
44. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860-7.
45. Wu Z-H, Shi Y, Tibbetts RS, Miyamoto S. Molecular linkage between the kinase ATM and NF- κ B signaling in response to genotoxic stimuli. *Science*. 2006;311(5764):1141-6.
46. Bartek J, Lukas J. The stress of finding NEMO. *Science*. 2006;311(5764):1110-1.
47. Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*. 2008;454(7203):455-62.
48. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002;420(6917):846-52.
49. Janssen WJ, Henson PM. Cellular regulation of the inflammatory response. *Toxicologic pathology*. 2012;40(2):166-73.
50. Daniel Cervantes-Villagrana R, Cervantes-Villagrana AR, Presno-Bernal JM. Mecanismos de señalización involucrados en la resolución de la inflamación. *Gaceta médica de México*. 2014;150(5):440-9.
51. Serhan CN. Novel chemical mediators in the resolution of inflammation: resolvins and protectins. *Anesthesiol Clin*. 2006;24(2):341-64.
52. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(5):349-61.
53. Trivedi SG, Newson J, Rajakariar R, Jacques TS, Hannon R, Kanaoka Y, et al. Essential role for hematopoietic prostaglandin D2 synthase in the control of delayed type hypersensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(13):5179-84.
54. Bannenberg G, Serhan CN. Specialized pro-resolving lipid mediators in the inflammatory response: an update. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Biology of Lipids*. 2010;1801(12):1260-73.

55. Gilroy DW. Eicosanoids and the endogenous control of acute inflammatory resolution. *The international journal of biochemistry cell biology*. 2010;42(4):524-8.
56. Waldburger J-M, Firestein GS. Regulation of peripheral inflammation by the central nervous system. *Current rheumatology reports*. 2010;12(5):370-8.
57. Li MO, Flavell RA. Contextual regulation of inflammation: a duet by transforming growth factor-beta and interleukin-10. *Immunity*. 2008;28(4):468-76.
58. Lechner MG, Liebertz DJ, Epstein AL. Characterization of cytokine-induced myeloid-derived suppressor cells from normal human peripheral blood mononuclear cells. *The Journal of Immunology*. 2010;185(4):2273-84.
59. El Kasmi KC, Holst J, Coffre M, Mielke L, De Pauw A, Lhocine N, et al. General nature of the STAT3-activated anti-inflammatory response. 2006;177(11):7880-8.
60. Zimmermann M. Behavioral investigations of pain in animals. Assessing pain in farm animals. 1986.
61. Duménigo González A, Frías Vázquez AI, García Delgado N, Ramentol RM, Cabrera Suárez HR, Alfonso S, et al. Actividad antiinflamatoria y analgésica de un extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa* (J. Ellis & Solander) JV Lamouroux. 2014;19(3):235-47.
62. González Guevara MC, Ospina Giraldo LF, Rincón Velandia J. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones de *Myrcianthes Leucoxila*, *Calea Prunifolia*, *Curatella Americana* y *Physalis Peruviana* en los modelos de edema auricular por tpa, edema plantar por carragenina y artritis inducida por colágeno. *Biosalud*. 2011;10(1):9-18.
63. Barboza Prado Lopes E. Analysis of Ly-6Chigh CD11b+ monocytes generated in vitro inflammatory animal models/Análisis de monocitos Ly-6Chigh CD11b+ generados in vitro en modelos animales de inflamación. 2013.
64. Quintana Blas CP, Hornes Salinas JF. Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las flores de la cantua buxifolia j. "flor sagrada de los incas" en edema subplantar inducido en ratas albinas. 2018.
65. Tasayco Yataco NJ, Álvarez Flores HR, Pizarro Carrasco JL, Vega Silva L, Gaspar Maquera KR, García Campos CM. Seguridad y efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senna alata* (L.) Roxb (dormilona) en ratas con inducción a inflamación aguda. 2019.

66. García Mayorga EA, Castro Lugo MP, Rocha Aguirre LL, Gutiérrez Hernández R, Reyes Estrada CA, Jiménez Martínez CJ. Efecto analgésico de Romero (*Rosmarinus officinalis*) en el modelo de formalina al 5%. Parte II. Contexto Odontológico. 2019;9(18):27-36.
67. Rodríguez M, Vergel N, Ospina L, Calle J, Pizón RJRCdCQ-F. Evaluación de actividades enzimáticas elastasa y mieloperoxidasa como marcadores de desgranulación leucocitaria en modelos de inflamación aguda. 2005;34(1).
68. Vieyra Márquez AM. Estudio del efecto antiinflamatorio del análogo sintético de la GnRH, acetato de leuprolida, en rata. 2016.
69. Okamoto K, Imbe H, Tashiro A, Kumabe S, Senba E. Blockade of peripheral 5HT3 receptor attenuates the formalin-induced nocifensive behavior in persistent temporomandibular joint inflammation of rat. *Neuroscience letters*. 2004;367(2):259-63.
70. Kolesnikov Y, Cristea M, Oksman G, Torosjan A, Wilson R. Evaluation of the tail formalin test in mice as a new model to assess local analgesic effects. *Brain research*. 2004;1029(2):217-23.
71. Alreja M, Mutalik P, Nayar U, Manchanda SK. The formalin test: A tonic pain model in the primate. *Pain*. 1984;20(1):97-105.
72. Ortega A, Roca A, Micó J. Modelos animales de dolor. Una visión crítica. *Rev Soc Esp Dolor*. 2002;9:447-53.
73. González-Darder J. Modelos animales de dolor y aspectos éticos de la experimentación animal. *Rev Soc Esp Dolor*. 2000;7:313-8.
74. Mallón SN. Estudio experimental de las vías del dolor de la región de las vibrisas en el cobaya tricolor (*Cavia porcellus*): Univ Santiago de Compostela; 2008.
75. Flores-Villegas B, Flores-Lazcano I, de Lourdes Lazcano-Mendoza M. Edema. Enfoque clínico. *Medicina interna de México*. 2014;30(1):51-5.
76. Barret KE, Barman SM, Boitano S. *Ganong Fisiología Médica*. 23a ed2010.
77. Vallejo Hernández R, Rosa ME, Gómez González del Tánago P, Panadero del Olmo LE, FJ. PC. Edemas. 2016.
78. Lu X, Howard MD, Mazik M, Eldridge J, Rinehart JJ, Jay M, et al. Nanoparticles containing anti-inflammatory agents as chemotherapy adjuvants: optimization and in vitro characterization. 2008;10(1):133-40.

79. Batlouni M. Antiinflamatorios no esteroides: efectos cardiovasculares, cerebrovasculares y renales. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2010;94(4):556-63.
80. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Henderson G, . *Farmacología*. 7a ed. Barcelona 2012.
81. Gris JH, Dragonetti MA, Fernández BM, Moglioni AG. Modelado Molecular e Interacción Enzima-Ligando (Docking) de Antiinflamatorios Derivados de 4-Hidroxi 1,2-Benzotiazinas-3-Carboxamidas, 1,1-Dióxido. *Información tecnológica*. 2009;20:51-61.
82. Rodríguez RC. Meloxicam: Antiartríticos. In: McGraw-Hill, editor. *Vademécum Académico de Medicamentos*. 6a ed. CDMX 2017. p. 742.
83. Khalil NY, Aldosari KF. Meloxicam. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. 2020;45:159-97.
84. Meloxicam [Available from: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Meloxicam.htm#:~:text=Su%20administraci%C3%B3n%20es%20por%20v%C3%ADa,dosis%20de%2015%20mg%2F%C3%ADa].
85. Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological reviews*. 2004;56(3):387-437.
86. Committee for veterinary medicinal products EMEA/MRL/571/99-FINAL (1999).
87. Jares E, Pignataro O. Mecanismos moleculares de acción de los corticoides. *Arch Alergia Immunol Clin*. 2002;33(1):9-21.
88. Ibáñez Estrella A, Berrocal Kasay A, Calvo Quiroz A. Terapia con glucocorticoides. *Diagnóstico (Perú)*. 2002:177-82.
89. Hahner S, Allolio B. Therapeutic management of adrenal insufficiency. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;23(2):167-79.
90. Danilowicz K, Bruno OD, Manavela M, Gomez RM, Barkan A. Correction of cortisol overreplacement ameliorates morbidities in patients with hypopituitarism: a pilot study. *Pituitary*. 2008;11(3):279.
91. Hindmarsh PC. Management of the child with congenital adrenal hyperplasia. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2009;23(2):193-208.
92. Rizzo L, Dobrovsky V, Danilowicz K, Kral M, Cross G, Serra HA, et al. Low-dose glucocorticoids in hyperandrogenism. *Medicina (Buenos Aires)*. 2007;67(3):247.

93. Bartalena L, Baldeschi L, Dickinson A, Eckstein A, Kendall-Taylor P, Marcocci C, et al. Consensus statement of the European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) on management of GO. *European journal of endocrinology*. 2008;158(3):273-85.
94. Espinoza Carbajal JG. Efectividad de la medicina herbolaria e impacto en la calidad de vida del poblador de Trujillo, la Libertad, Perú 2019. 2019.
95. Factory FF. ¿Qué es la herbolaria? : Fast Fruit Factory; 2018 [Available from: <https://fastfruitfactory.com/que-es-la-herbolaria/>].
96. Vargas Tapia LA. Inhibición de las enzimas alfa-glucoosidasas mediante compuestos organicos extraidos de la herbolaria mexicana: Universidad de las Américas Puebla; 2019.
97. Ecofronteras R. Mirando al sur. *Ecofronteras*. 2017;21:21-.
98. Kompelly A, Kompelly S, Vasudha B, Narender B. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2019;9(1):323-30.
99. Andrade Cáceres JD, Murillo Mala MA. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Aristeguietia glutinosa* en ratones *Mus musculus*. Riobamba - Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2019.
100. Villegas-Novoa C, Moreno-Jiménez MR, Rocha-Guzmán NE. Infusión de la planta medicinal *Buddleja scordioides* Kunth utilizada para tratar la inflamación intestinal. *CienciaUAT*. 2020;14(2):21-33.
101. Chipa Aybar E, Dolorier de la Cruz SA. Actividad diurética del extracto etanólico de las hojas de *baccharis trimera* (carqueja) en ratas. 2019.
102. Mateo-Rivera IA, Jiménez-Corona AE. Plantas medicinales usadas en la terapéutica de pacientes con hipertensión y diabetes mellitus tipo II, de la región indígena Tepehuana. *Ciencia Huasteca Boletín Científico De La Escuela Superior De Huejutla*. 2019;7(13):30-6.
103. Segura Munguia S, Torres Ripa J. Historia de las plantas en el mundo antiguo. Bilbao, Universidad de Deusto Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. 2009.
104. Quer PF, Davit S. Plantas medicinales: el Dioscórides renovado. Labor; 1993.
105. Málaga Ad. Romero [Available from: <https://bioeduca.malaga.eu/es/catalogo-de-especies/detalle-de-la-especie/Romero/#!tab2>].

106. Salehi P, Fakhari AR, Ebrahimi SN, Heydari R. Rapid essential oil screening of *Rosmarinus officinalis* L. by hydrodistillation–headspace solvent microextraction. *Flavour and Fragrance journal*. 2007;22(4):280-5.
107. Kuklinski C. *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural: Omega*; 2000.
108. Bruneton J. *Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales*. España: Acribia 2001.
109. de Melo GAN, Grespan R, Fonseca JP, Farinha TO, Silva EL, Romero AL, et al. *Rosmarinus officinalis* L. essential oil inhibits in vivo and in vitro leukocyte migration. *Journal of medicinal food*. 2011;14(9):944-6.
110. Rodriguez Luna AM, Talero Barrientos EM. *Estudio de lípidos aislados de microalgas y polifenoles en modelos inflamatorios de piel*. Sevilla: Universidad de Sevilla; 2017.
111. Centeno LMM. *Plantas medicinales españolas. Rosmarinus officinalis L.(Lamiaceae)(romero)*. *Studia Botânica*. 2010;21.
112. Benincá JP, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Fröde TS. Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. *Food chemistry*. 2011;124(2):468-75.
113. Mengoni ES, Vichera G, Rigano LA, Rodriguez-Puebla ML, Galliano SR, Cafferata EE, et al. Suppression of COX-2, IL-1 β and TNF- α expression and leukocyte infiltration in inflamed skin by bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* L. *Fitoterapia*. 2011;82(3):414-21.
114. Purca Peña TP. *Efectividad antibacteriana" in vitro" del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival*. Lima - Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
115. De la Cruz M. *The Badianus Manuscript:(Codex Barberini, Latin 241) Vatican Library; an Aztec Herbal of 1552*: Johns Hopkins Press; 1940.
116. Quattrocchi U. *CRC World Dictionary of Plants Names: Common Names, Scientific Names*. 1st ed. New York 1999. 728 p.

117. Flores Martínez L. Efecto hipotensor y vasorelajante de la corteza del ahuehute (*Taxodium mucronatum*) en la rata *Rattus norvegicus*. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 2008.
118. Departamento de Botánica IdBI. *Taxodium mucronatum* Ten. Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México 2019 [Available from: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:536633>].
119. Fralish JS, Franklin SB. Taxonomy and ecology of woody plants in North American forests: (Excluding Mexico and Subtropical Florida). New York: John Wiley & Sons; 2002.
120. Calderon de Rzedowski G, Rzedowski J. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Pátzcuaro (Michoacán) 2001.
121. Pan X, Tan N, Zeng G, Zhang Y, Jia R. Amentoflavone and its derivatives as novel natural inhibitors of human cathepsin B. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2005;13(20):5819-25.
122. Yumei Z, Ninghua T, Huoqiang H, Ruirui J, Guangzhi Z, Changjiu J. Three bioactive biflavones isolated from *Taxodium mucronatum*. *Acta Botánica Yunnanica*. 2005;27:107-10.
123. O'Leary KA, de Pascual-Tereasa S, Needs PW, Bao Y-P, O'Brien NM, Williamson G. Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2004;551(1-2):245-54.
124. An J, Li Z, Dong Y, Ren J, Huo J. Amentoflavone protects against psoriasis-like skin lesion through suppression of NF- κ B-mediated inflammation and keratinocyte proliferation. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2016;413(1):87-95.
125. Woo E, Lee J, Cho I, Kim S, Kang K. Amentoflavone inhibits the induction of nitric oxide synthase by inhibiting NF- κ B activation in macrophages. *Pharmacological Research*. 2005;51(6):539-46.
126. Krauze-Baranowska M, Wiwart M. Antifungal activity of biflavones from *Taxus baccata* and *Ginkgo biloba*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2003;58(1-2):65-9.
127. Perusquía M, Mendoza S, Bye R, Linares E, Mata R. Vasoactive effects of aqueous extracts from five mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *Journal of ethnopharmacology*. 1995;46(1):63-9.

128. Khabir M, Khatoon F, Ansari WH. Flavonoid Glycosides from the leaves of *Taxodium mucronatum*. The Indian Chemical Society. 1986;63(8):781-2.
129. Ramos AR, Escamilla EM, Calderón J, Rodríguez B. 8 β -Hydroxypimar-15-en-19-oic acid from *Taxodium mucronatum*. *Phytochemistry*. 1984;23(6):1329-30.
130. Mongrand S, Badoc A, Patouille B, Lacomblez C, Chavent M, Cassagne C, et al. Taxonomy of gymnospermae: multivariate analyses of leaf fatty acid composition. *Phytochemistry*. 2001;58(1):101-15.
131. Marquez Alonso C, Lara Ochoa F. Plantas medicinales de México II: composición, usos y actividad biológica: Universidad Nacional Autónoma de México; 1999.
132. Lara Ochoa F, Marquez Alonso C. Plantas medicinales de México: composición, usos y actividad biológica 1996.
133. Carranza Gonzalez E. Familia Taxodiaceae. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes Fascículo. 1992.
134. Quiñonez Amezquita CTdlM. Chinampas y chinamperos: los horticultores de San Juan Tezompa: Universidad Iberoamericana; 2005.
135. Santibáñez S C, Roque E J, Morales V G, Corrales W R. Características de las interacciones farmacológicas en una unidad de cuidados intensivos de pediatría. *Revista chilena de pediatría*. 2014;85:546-53.
136. García MEL, Morales JRZ, Castro ÁJA, Morales MR. Evaluación de la Interacción Antinociceptiva del extracto etanólico de justicia *Spicigera* y Tramadol. 2018.
137. Alonso-Castro AJ, Zapata-Morales JR, Solorio-Alvarado C, Hernández-Santiago A, Espinoza-Ramírez LA, Carranza-Álvarez C, et al. Central nervous system evaluation of an ethanol extract of *Bidens odorata* Cav (Asteraceae) leaves, and its antinociceptive interaction with paracetamol and naproxen. *Inflammopharmacology*. 2020;28(3):749-57.
138. Gessner PK. Isobolographic analysis of interactions: an update on applications and utility. *Toxicology*. 1995;105(2-3):161-79.
139. Aguilar Mariscal H. Estudio de la relación entre la farmacocinética y los efectos antihiperalgésico y antiinflamatorio del Meloxicam en la rata . Instituto Politécnico Nacional; 2008.
140. Rowland M, Tozer N. Clinical pharmacokinetics: concepts and applications. 2nd ed. Philadelphia. 1989. 115-8 p.

141. Rocha J, Eduardo-Figueira M, Barateiro A, Fernandes A, Brites D, Bronze R, et al. Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2015;116(5):398-413.
142. Mayorga EAG, Lugo MPC, Aguirre LLR, Hernández RG, Estrada CAR, Martínez CJJ. Efecto analgésico de Romero (*Rosmarinus officinalis*) en el modelo de formalina al 5%. *Contexto Odontológico*. 2018;8(16).
143. Ghasemzadeh Rahbardar M, Amin B, Mehri S, Mirnajafi-Zadeh SJ, Hosseinzadeh H. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinic acid in a rat model of neuropathic pain. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;86:441-9.
144. Pardo L, Arias J, Molleda P. Elaboración de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y su uso como conservante. *La Granja Revista de Ciencias de la Vida*. 2022;35(1):45-58.
145. Luna AMR. Estudio de lípidos aislados de microalgas y polifenoles en modelos inflamatorios de piel: Universidad de Sevilla; 2014.
146. Ahuehuate Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Available from: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=taxodium-mucronatum>].
147. Arriaga Arana EL, Montero Matías ED. Determinación de la actividad hipoglucemiante de *Polygonum aviculare* L y actividad antiinflamatoria de *Cuphea aequipetala* Cav., *Taxodium mucronatum* y *Gentiana spathacea* Kunth. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional; 2015.
148. Yu-mei Z, Ning-hua T. Chemical Constituents of *Taxodium mucronatum*. *Natural Product Research & Development*. 2007;19(5).
149. Banerjee T, Valacchi G, Ziboh VA, van der Vliet A. Inhibition of TNF alpha-induced cyclooxygenase-2 expression by amentoflavone through suppression of NF-kappa B activation in A549 cells. *Mol Cell Biochem*. 2002;238(1-2):105-10.
150. Velázquez de Campos OJ. Meloxicam, un AINE con características especiales. *Salud (i) Ciencia*. 2020;23(8):650-2.

151. Pascottini OB, Van Schyndel SJ, Spricigo JFW, Carvalho MR, Mion B, Ribeiro ES, et al. Effect of anti-inflammatory treatment on systemic inflammation, immune function, and endometrial health in postpartum dairy cows. *Scientific Reports*. 2020;10(1):5236.
152. Villegas I, La Casa C, de la Lastra CA, Motilva V, Herrerías JM, Martín MJ. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: role of prostaglandins and inflammatory response. *Life Sci*. 2004;74(7):873-84.
153. Bharani SP, Naik AK, Parija SC, Panda SK. Meloxicam induced toxicopathology studies in Wistar rats. *Indian journal of animal research*. 2020;54(3):363-6.
154. Burukoglu D, Baycu C, Taplamacioglu F, Sahin E, Bektur E. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on stomach, kidney, and liver of rats. *Toxicology and industrial health*. 2016;32(6):980-6.
155. Al-Rekabi FM, Abbas DA, Hadi N. Effects of subchronic exposure to meloxicam on some hematological, biochemical and liver histopathological parameters in rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 2009;23.
156. Mohammed N, El-Drieny E, Ibrahim S, Al-agory M, Gheth E. Histopathological Changes in liver tissue induced by meloxicam in male mice. *Int J Pharm Life Sci*. 2019;10(1):6059-63.
157. Roughan JV, Bertrand HG, Isles HM. Meloxicam prevents COX-2-mediated post-surgical inflammation but not pain following laparotomy in mice. *Eur J Pain*. 2016;20(2):231-40.
158. Rodríguez MIR, Aguilar DD, León JAM. Actividad antiinflamatoria de plantas medicinales (Revisión). *Redel Revista Granmense de Desarrollo Local*. 2020;4:320-32.
159. Salaverry Acedo SE, Taco Rodriguez RC. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A.(Chupasangre) en ratas albinas (Holtzman). 2020.
160. Gutiérrez Durán MdP, González Dávalos E. Evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico de la asociación de los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. en modelo murino. *Revista CON-CIENCIA*. 2018;6(2):15-26.
161. El-Taib MI, Fakhry G, Khalifa Y, Haredy H. Anti-inflammatory activity in vitro and in vivo of ethanolic extracts of *Stevia rebaudiana* Bertoni and *Trigonella foenum-graecum*. *Scientific Journal of Agricultural Sciences*. 2020;2(2):137-43.

162. Abu-Serie MM, Habashy NH, Attia WE. In vitro evaluation of the synergistic antioxidant and anti-inflammatory activities of the combined extracts from Malaysian *Ganoderma lucidum* and Egyptian *Chlorella vulgaris*. *BMC Complement Altern Med.* 2018;18(1):154.