



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA.

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DEL
EXTRACTO ACUOSO DEL TOMATE VERDE (PHYSALIS
IXOCARPA) EN RATONES.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO.**

**PRESENTA:
GARDUÑO SU JOSÉ ANTONIO.**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. RUBÉN MARROQUÍN SEGURA
ASESOR DE TESIS:
MC. MAURILIO FLORES PIMENTEL.**

FES ZARAGOZA, 2012.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO:

1.0 Resumen.	1
2.0 Introducción.	2
3.0 Marco teórico.	4
3.1 <i>Physalis ixocarpa.</i>	4
3.1.1 <i>Descripción botánica.</i>	4
3.2 <i>Agentes inflamatorios.</i>	6
3.3 <i>Inflamación aguda.</i>	7
3.3.1 <i>Cambios hemodinámicos en el calibre y en el flujo.</i>	7
3.3.2 <i>Alteración de la permeabilidad vascular.</i>	8
3.3.2.1 <i>Contracción de las células endoteliales.</i>	9
3.3.2.2 <i>Aumento de la permeabilidad vascular.</i>	9
3.3.2.3 <i>Respuestas de los vasos linfáticos.</i>	9
3.3.2.4 <i>Modificaciones leucocitarias.</i>	10
3.4 <i>Mediadores de la inflamación.</i>	12
3.4.1 <i>Metabolitos del ácido araquidónico.</i>	12
3.4.2 <i>Aminas vasoactivas: histamina y serotonina.</i>	13
3.4.3 <i>Citocinas.</i>	14
3.4.4 <i>Factor activador de las plaquetas.</i>	15
3.4.5 <i>Radicales libres de oxígeno (rlo).</i>	15
3.4.6 <i>Constituyentes de los lisosomas de los leucocitos.</i>	17
3.4.7 <i>Neuropéptidos.</i>	17
3.4.8 <i>Mediadores derivados de proteínas plasmáticas.</i>	17
3.5 <i>Inflamación crónica.</i>	20
3.5.1 <i>Características.</i>	21
3.5.2 <i>Células implicadas en la inflamación crónica.</i>	22
3.5.2.1 <i>Macrófagos.</i>	22
3.5.2.2 <i>Linfocitos.</i>	23
3.5.2.3 <i>Células plasmáticas.</i>	23
3.5.2.4 <i>Eosinófilos.</i>	24
3.5.2.5 <i>Células cebadas.</i>	24
3.5.2.6 <i>Neutrófilos.</i>	24
3.5.3 <i>Inflamación granulomatosa.</i>	25
3.6 <i>Agentes antiinflamatorios.</i>	25
3.6.1 <i>Antiinflamatorios no esteroideos.</i>	25
3.6.2 <i>Antiinflamatorios esteroideos.</i>	27
3.7 <i>Fundamento de las técnicas empleadas para determinar el grado de afección causadas por procesos inflamatorios.</i>	29
3.7.1 <i>Ceruloplasmina.</i>	29

3.7.1.1	<i>Inmunodifusión radial o técnica de Mancini.</i>	30
3.7.1.2	<i>Reacción antígeno- anticuerpo.</i>	31
3.7.1.3	<i>Reacción de precipitación.</i>	31
3.7.2	<i>Oxido nítrico (NO).</i>	31
3.7.2.1	<i>Reacción de Griess.</i>	32
4.0	Problema de investigación.	33
5.0	Objetivos.	34
5.1	<i>Objetivo general.</i>	34
5.2	<i>Objetivos particulares.</i>	34
6.0	Hipótesis.	35
7.0	Diseño de investigación.	36
8.0	Reactivos, equipo y material.	37
9.0	Métodos.	39
9.1	<i>Inflamación aguda.</i>	39
9.2	<i>Inflamación crónica.</i>	39
9.3	<i>Estudio estadístico.</i>	40
10.0	Diagrama de flujo.	41
10.1	<i>Inflamación aguda.</i>	41
10.2	<i>Inflamación crónica.</i>	41
11.0	Resultados.	42
11.1	<i>Resultados del modelo de inflamación crónica.</i>	42
11.2	<i>Resultados del modelo de inflamación agudo.</i>	46
12.0	Análisis de resultados.	51
13.0	Conclusiones.	52
14.0	Propuestas y/o recomendaciones.	53
15.0	Anexos.	54
15.1	<i>Elaboración del extracto.</i>	54
15.2	<i>Grupos de experimentación.</i>	54
15.3	<i>Administración de tratamientos por sonda gástrica.</i>	54
15.4	<i>Preparación del grupo de experimentación para la evaluación del modelo crónico.</i>	55
15.5	<i>Preparación del grupo de experimentación para la evaluación del modelo agudo.</i>	56
16.0	Referencias bibliográficas.	57

DEDICATORIA...

El siguiente trabajo va dedicado a la mujer que se hace llamar Rosa Aurora Su Pérez, la cual, si mi memoria no me falla desde hace 33 años ha demostrado la fortaleza y el valor para progresar y seguir adelante, aquella misma mujer que me enseñó a respetar, luchar y a saber perder así como a creer que el futuro lo forjas tu mismo y no solo es cosa del destino; ella misma quien orgullosamente se mostraba fuerte y de pie como un roble ante sus hijos para no demostrarles el cansancio y dificultades de su vida. A esa mujer a la cual no se como agradecerle tantas cosas le dedico el presente trabajo.

GRACIAS MADRE!!!!

AGRADECIMIENTOS.

A mi director de tesis el Dr. Rubén Marroquín Segura por confiar en mí hasta el último instante, por tantos chistes y chascarrillos.

A mis sinodales: José Luis por mostrarse como uno más de nuestros compañeros y no como docente estricto. A Estelita por ser un amor de persona. A Mauricio por impulsarme al ser muy estricto y dedicado, por último pero no menos importante a Graciela mi Profesora de BCT.

A mi Abue por luchar a mi lado sin crítica alguna.

A mi hermano por darme alientos, risas y consejos chafas.

A mi tía por ser mi segunda madre.

A Héctor Martínez por ser como mi segundo padre.

A mis amigos los cuales son un ejemplo de superación.

A Israel Santos Barajas por brindarme el verdadero valor de la amistad y tantos momentos divertidos que me hacía pasar en los momentos más tristes.

A Jesús Vázquez Martínez por ayudarme en tantos momentos angustiosos.

A Alma Alejo García por ayudarme durante la carrera.

A José de Jesús Carrasco González (El Konan) por escucharme y ayudarme.

A Fernando Flores (El Coby) por esos grandes favores que nunca se rehusaba a ayudar.

A Leslie Viridiana por ayudarme en la ortografía del presente trabajo (jejeje).

A Berenice Elizabeth Rodríguez Estrada por ayudarme a elegir mi camino profesional.

A Alejandro Jahen por mostrarme el valor del estudio y el esfuerzo que implica que uno este aquí.

A Mayela Mendoza Leguizamo por que sin ella esto no estuviera aquí y yo no fuera nada.

1.0 RESUMEN.

Se evaluó la propiedad antiinflamatoria del extracto acuoso del Tomate verde (*Physalis ixocarpa*) en ratones albinos machos, producido en el laboratorio de Inmunología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, en concentraciones de 80, 40 y 20 mg/kg, siendo administradas por vía oral en procesos agudos y crónicos. Se utilizaron modelos experimentales, como el edema subplantar administrando carragenina para procesos agudos y el granuloma inducido por pellets de algodón para procesos crónicos, incluidos en las recomendaciones.

En el modelo de inflamación crónica los resultados se compararon con hidrocortisona y con respecto al modelo de inflamación aguda se compararon con indometacina ambos antiinflamatorios reconocidos; el control negativo para ambos fue solución salina. Se comprobó por simple inspección y confirmación estadística posterior, la existencia de propiedades antiinflamatorias del extracto acuoso el cual mostró efectos inhibitorios sobre los edemas producidos en el proceso de inflamación crónica con diferentes dosis empleadas; los mejores resultados se obtuvieron a concentración de 80 mg/kg; el modelo de inflamación aguda no mostro diferencias significativas entre sus resultados.

2.0 INTRODUCCIÓN.

El estudio de nuevos fármacos o principios activos con propiedades terapéuticas obtenidos a partir de fuentes naturales ha cobrado gran importancia en los últimos años. Incluso en países donde la biotecnología y la industria químico-farmacéutica han alcanzado un alto desarrollo, se destina gran cantidad de recursos a la investigación de las bondades que nos ofrece la naturaleza con fines médico-terapéuticos.

Physalis ixocarpa, conocido también como tomate verde o tomate de cascara, es una planta herbácea erecta y ramificada anual de 50 cm a un metro de altura, hojas alternas, largamente ovadas; tallo largo y ramas cubiertas en forma de corazón; sus flores son monopétalas, amarillentas, con manchas oscuras; el fruto es esférico de unos 3 cm de diámetro, liso, color verdoso, algo pegajoso, cubierto por el cáliz persistente; su sabor es ligeramente ácido o algo dulzón y requiere de un largo periodo de crecimiento.

Este fruto es utilizado por la población mexicana como un componente constante de la dieta, principalmente en salsas preparadas con sus frutos.

Otro uso de esta planta es emplear los frutos como remedio natural para tratar enfermedades respiratorias como la tos, afecciones digestivas, bajar los estados febriles, alopecia, presión arterial alta, diabetes y problemas visuales.

Usualmente el fruto es asado en un comal y aplicado en forma de cataplasma; el cual es un método alternativo o naturista tópico de consistencia blanda y caliente, que se emplea en remedios medicinales; especialmente cuando los efectos son calmantes, antiinflamatorios o emolientes; motivo por el cual se plantea esta investigación.

Se estudió la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa* en el Laboratorio de Inmunología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza en animales de experimentación (ratones) evaluándose el efecto de las dosis 80, 40 y 20 mg/kg induciendo la inflamación aguda por administración de carragenina para así determinar mediante la diferencia de pesos y diámetros con respecto a la inflamación el posible efecto, así como de 80, 40 y 20 mg/kg en el modelo de inflamación crónica inducido por pellets de algodón, el

cual nos generaría los marcadores bioquímicos necesarios (ceruloplasmina y nitritos) para la detección del posible efecto antiinflamatorio.

Las dosis de 80 y 40 mg/kg disminuyeron significativamente el peso del granuloma. Estos resultados muestran que el extracto posee propiedades anti-inflamatorias interesantes para futuros estudios.

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 *Physalis ixocarpa*.

Desde hace algunos años, tanto los países altamente desarrollados como aquellos del tercer mundo con escasos recursos económicos, han retomado y desarrollado el uso de las plantas medicinales con fines terapéuticos en lo que se ha llamado la Revolución Verde de la Medicina.

El **miltomate**, **tomatillo**, tomate verde, tomate de fresadilla o simplemente tomate (*Physalis ixocarpa* o *Physalis philadelphica*) es una especie botánica originaria de México, perteneciente a la familia de las solanáceas.

Cada 100g. de tomate contiene 1g. de proteínas, 0.7g. de grasas, 4.5g de carbohidratos y 18mg. de hierro, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico.

3.1.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.



Planta herbácea, anual, de 40 a 120cm de altura o mas dependiendo de los hábitos de crecimiento.

Raíz: Típica o columnar presenta ramificaciones secundarias profundas que pueden alcanzar hasta 60 cm. o más. En sistema de plantación sufre una modificación transformándose en fibrosas y de poca penetración al suelo.

Hábito de crecimiento: presenta tres tipos de hábitos de crecimiento: rastrero, erecto y semierecto. El hábito rastrero se caracteriza porque generalmente crece en forma erecta sólo hasta 4 cm. y conforme se desarrolla la planta, los tallos se extienden sobre la superficie del suelo. El tipo erecto se identifica por el aspecto arbustivo que presenta la planta originada por un crecimiento casi vertical de los tallos, las variedades nuevas en su mayoría son de crecimiento semierecto.

Tallo: El tallo es estirado, herbáceo o ligeramente leñoso en la base; ramas primarias de 0.8 a 2.3 cm. de diámetro, en los primeros días de vida se presentan pelos esparcidos en el tallo, hojas y ramas las cuales se pierden a medida que van creciendo.

Fisiología: Crecimiento. Las plantas de tomate de cáscara tienen un ciclo de vida de 70 a 110 días desde la siembra hasta la senescencia dependiendo la variedad, una vez que emerge la plántula inicia un crecimiento lento, aproximadamente 1 cm. por día; posteriormente a los 25 días, el crecimiento se acelera y se estabiliza alrededor de los 55 días que es cuando alcanza una altura de 90 cm. (en las plantas rastreras aproximadamente 60 cm.), la planta sigue creciendo lentamente y puede llegar a alcanzar poco más de 1m. (erectas), esto sucede como a los 70 días, posteriormente la planta empieza a envejecer y cae por el peso de los frutos hasta su muerte.

Temperatura óptima: La temperatura óptima promedio que demanda el tomate de cáscara al momento de sembrar es de 20 a 25° C, su crecimiento vegetativo requiere de 22 a 26° C, pero con temperaturas mayores de 32° C puede provocar una deshidratación del tubo polínico y en consecuencia abortos y frutos mal formados.¹

3.2 AGENTES INFLAMATORIOS.

Por lo general la inflamación es la forma de manifestarse de muchas enfermedades. Se trata de una respuesta inespecífica frente a las agresiones del medio, y está generada por los agentes inflamatorios. La respuesta inflamatoria ocurre sólo en tejidos conectivos vascularizados y surge con el fin defensivo de aislar y destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano dañado. Se considera por tanto un mecanismo de inmunidad innata, estereotipado, en contraste con la reacción inmune adaptativa, específica para cada tipo de agente infeccioso.

Tipos de agentes.

- Agentes biológicos: bacterias, virus, parásitos, hongos; las células de mamíferos disponen de receptores que captan la presencia de microorganismos, entre los receptores más importantes están los receptores de tipo TOLL, que detectan la presencia de bacterias, virus y hongos, y desencadenan vías de señalización que estimulan la producción de diferentes mediadores.
- Agentes o condiciones que producen necrosis de los tejidos afectados: las células necróticas liberan moléculas que activan la respuesta inflamatoria, como ácido úrico, ADP o incluso ADN; entre estos agentes tenemos:
 - Agentes físicos: radiaciones, frío, calor, rayos UV.
 - Agentes químicos: venenos, toxinas.
 - Traumatismos y cuerpos extraños, que inducen inflamación porque dañan los tejidos (necrosis) o aportan microorganismos.
 - Alteraciones vasculares: como por ejemplo las que producen isquemia.
- Alteraciones inmunitarias: como por ejemplo las respuestas de hipersensibilidad o las autoinmunes; en estos casos es la propia respuesta inmunitaria la que induce la inflamación, que es la causa principal del daño tisular.

3.3 INFLAMACIÓN AGUDA.

La fase aguda de la inflamación es sinónimo de reacción inmune innata. En la inflamación aguda distinguimos tres puntos clave: cambios hemodinámicos, alteración de la permeabilidad vascular y modificaciones leucocitarias.

3.3.1 Cambios hemodinámicos en el calibre y en el flujo.

Después de un periodo inconstante y transitorio de vasoconstricción arteriolar, se produce vasodilatación e hiperemia activa (aumento de flujo sanguíneo en la zona de la lesión), que causa enrojecimiento y aumento de la temperatura. Después se produce un periodo de hiperemia pasiva en la que disminuye el flujo por un aumento de la permeabilidad vascular con extravasación de líquido y aumento de la viscosidad sanguínea en los vasos de menor calibre, que es lo que se denomina estasis (parálisis total del flujo). A medida que evoluciona la estasis se produce la orientación periférica (migración) de los leucocitos, que se adhieren al endotelio, atraviesan la pared vascular y se dirigen al intersticio.

Paso por paso se observa lo siguiente:

- 1- Vasodilatación arteriolar y capilar, que provoca la apertura de capilares y vénulas, inducida por la acción de diferentes mediadores sobre el músculo liso vascular, principalmente histamina y óxido nítrico.
- 2- Aumento de la velocidad del flujo sanguíneo (hiperemia) por las arteriolas, que es la causa de la aparición de eritema (enrojecimiento) en el sitio de la inflamación.
- 3- Aumento de la permeabilidad vascular: salida de un exudado inflamatorio hacia los tejidos extravasculares y aparición de edema inflamatorio.
- 4- Acumulación anormal y excesiva de sangre: la salida de líquido provoca un aumento de la viscosidad de la sangre, lo cual aumenta la concentración de los glóbulos rojos (congestión venosa).
- 5- Disminución de la velocidad de la sangre en pequeños vasos (estasis sanguínea).

6- Acumulación periférica de los leucocitos: marginación y pavimentación leucocitaria.

7- Al mismo tiempo, las células endoteliales son activadas por los mediadores de la inflamación, expresando moléculas en sus membranas que favorecen la adhesión de los leucocitos, fundamentalmente los neutrófilos (PMN).

8- Paso de leucocitos (PMN en primer lugar, seguidos por los macrófagos) desde los vasos al intersticio: Se produce por la migración celular, con formación del infiltrado inflamatorio.

Asimismo, durante la fase de reparación que sigue a la inflamación aguda y durante la inflamación crónica se produce un fenómeno de proliferación de vasos sanguíneos denominado angiogénesis.

3.3.2 Alteración de la permeabilidad vascular.

En condiciones normales el endotelio no permite la salida de proteínas y el intercambio se produce por pinocitosis. Durante la inflamación, se alteran las bases morfológicas del endotelio por acción de los mediadores químicos, produciéndose una alteración de las uniones celulares y las cargas negativas de la membrana basal.

La salida de líquidos, proteínas y células a partir de la sangre se denomina exudación:

- Un exudado es un líquido extracelular que contiene alta concentración de proteínas y restos celulares, muy denso; su presencia implica una reacción inflamatoria.
- Un trasudado, sin embargo, es un fluido con bajo contenido en proteínas (contiene sobre todo albúmina); es un ultrafiltrado del plasma debido a la existencia de una diferencia de presión osmótica o hidrostática a través de la pared de un vaso, sin aumento de la permeabilidad vascular ni proceso inflamatorio.
- Un edema es un exceso de líquido en el tejido intersticial, que puede ser un exudado o un trasudado.
- El pus es un exudado purulento, un exudado inflamatorio rico en leucocitos (sobre todo PMN), restos de células muertas y, en muchos casos, microorganismos.

El aumento de la permeabilidad vascular se genera por varios mecanismos, que pueden producirse simultáneamente:

3.3.2.1 Contracción de las células endoteliales.

Es el mecanismo más común, desencadenado por diferentes mediadores de las células plasmáticas y las células cebadas, como la histamina, la bradiquinina, la serotonina, los leucotrienos y el factor activador plaquetario (PAF), entre otros. Estas sustancias provocan la contracción brusca de los filamentos de actina y miosina de las células endoteliales que se retraen, de forma que los espacios interendoteliales aumentan. Después el citoesqueleto se reorganiza para mantener la contracción durante más tiempo. Las sustancias inflamatorias deben disolver la membrana basal de estas aperturas.

La necrosis de las células endoteliales provoca su separación de la pared del vaso, creando de esta forma una apertura en el mismo. Puede producirse en heridas severas, como quemaduras, o por la acción tóxica de microorganismos que afectan directamente el endotelio. Los PMN que se adhieren a las células endoteliales también pueden dañarlas. En este caso, la pérdida de líquido continúa hasta que se forma un trombo o se repara el daño.

3.3.2.2 Aumento de la permeabilidad vascular.

El transporte de fluidos y proteínas a través de las propias células endoteliales (y no entre ellas) puede realizarse mediante canales que se forman a partir de vacuolas y vesículas no recubiertas interconectadas.

3.3.2.3 Respuestas de los vasos linfáticos.

En condiciones normales, el sistema linfático filtra y controla las pequeñas cantidades de líquido extravascular que se ha perdido en los capilares. Durante la inflamación, la cantidad de líquido extracelular aumenta, y el sistema linfático participa en la eliminación del edema. Asimismo, en este caso una mayor cantidad de leucocitos, restos celulares y microorganismos pasan a la linfa. Como ocurre con los vasos sanguíneos, los linfáticos también proliferan en los procesos inflamatorios, para atender al incremento de la demanda. Puede ocurrir que los vasos linfáticos se inflamen de forma secundaria (linfangitis), o que

se inflamen los ganglios (linfadenitis), a causa de la hiperplasia de los folículos linfoides y al mayor número de linfocitos y macrófagos.

3.3.2.4 Modificaciones leucocitarias.

Los leucocitos fagocitan a los patógenos, destruyen a las bacterias y a los microorganismos, y degradan el tejido necrótico, pero también pueden prolongar la lesión tisular al liberar enzimas, mediadores químicos y especies reactivas del oxígeno (ERO, o también ROS, por sus siglas en inglés; también denominados radicales libres de oxígeno, RLO). Los dos grupos de leucocitos más importantes en un proceso de inflamación son los leucocitos: neutrófilos (PMN) y los macrófagos.

El tejido conjuntivo contiene macrófagos y células cebadas, que son células centinelas capaces de reconocer la presencia de microorganismos, células muertas o cuerpos extraños. Los macrófagos son los elementos principales en el inicio del proceso de inflamación, ya que poseen receptores específicos capaces de reconocer microorganismos y células muertas. Cuando reconocen estos elementos, los macrófagos producen las citoquinas IL-1 y TNF- α , que desencadenan la inflamación propiamente dicha actuando sobre las células endoteliales de los vasos sanguíneos cercanos (sobre todo las vénulas post-capilares), para permitir la migración transendotelial de los leucocitos.

Las células cebadas reaccionan al estrés físico que se detecta en los tejidos (calor, frío, presión) y producen los mediadores serotonina e histamina, que son potentes agentes vasoactivos que actúan sobre la contracción y la permeabilidad de los vasos, tanto arteriales como venosos.

Como consecuencia de la activación de macrófagos y células cebadas, se produce la liberación de los mediadores químicos de la inflamación. Estos mediadores inducen vasodilatación en la zona afectada, lo que provoca la salida de líquido de la sangre hacia los tejidos, generando un edema. Por esta razón, la viscosidad de la sangre aumenta, debido al aumento de concentración de los glóbulos rojos, lo que provoca un descenso en el flujo sanguíneo (estasis). En estas condiciones hemodinámicas, los leucocitos se redistribuyen en posición periférica, un fenómeno denominado marginación. A continuación, los leucocitos

ruedan sobre la superficie del endotelio, estableciendo contactos transitorios con las células endoteliales, soltándose y volviéndose a unir. Finalmente, los leucocitos se adhieren firmemente al endotelio, antes de iniciar la migración a través de los capilares.

Los leucocitos que han atravesado los capilares se dirigen hacia la zona afectada por un proceso de quimiotaxis. Una vez allí, fagocitan los microorganismos y los destruyen, generando la producción de pus. El pus será eliminado hacia el exterior si la lesión está en contacto con el exterior, o generará un absceso si la zona donde se ha formado el pus está en el interior de un órgano.

Una vez eliminado el pus (bien de manera natural o por intervención quirúrgica en caso de absceso), los macrófagos y los linfocitos proceden a la reparación del tejido dañado por la inflamación aguda. El daño tisular está producido generalmente por los PMN, que son muy numerosos y liberan enzimas hidrolíticas y radicales libres que dañan los tejidos. La reparación se produce gracias a los macrófagos, que estimulan a los fibroblastos a sintetizar colágeno y a las células endoteliales a generar nuevos vasos, mediante la secreción de factores de crecimiento. Sin embargo, la reparación es siempre incompleta, ya que no se recupera la estructura original: las glándulas y los pelos de la zona no se regeneran.

La naturaleza de los leucocitos infiltrados varía según el momento de la respuesta inflamatoria y el tipo de estímulo. En la mayor parte de los casos de inflamación aguda, los neutrófilos (PMN) predominan durante las primeras 6-24h, y luego son reemplazados por monocitos en 24-48h. La rápida aparición de los PMN se debe a que son más abundantes en la sangre, responden más rápido a las quimocinas y se adhieren más fuertemente a las moléculas de adhesión que aparecen en las células endoteliales activadas, como las selectinas E y P. Sin embargo, después de entrar en los tejidos, los PMN tienen una vida media corta: sufren apoptosis y desaparecen después de 24-48h. Los monocitos responden más despacio, pero no sólo sobreviven en los tejidos, sino que además proliferan y dan lugar a los macrófagos, de manera que se convierten en la población dominante en las reacciones inflamatorias crónicas. Sin embargo, en algunos casos las poblaciones de leucocitos pueden variar: en infecciones por *Pseudomonas*, los neutrófilos se reclutan de

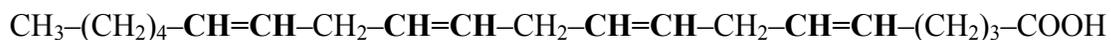
forma continua durante varios días; en infecciones virales, los linfocitos son los primeros en llegar.

3.4 Mediadores de la inflamación.

Estos mediadores son pequeñas moléculas que consisten en lípidos (leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas), aminoácidos modificados (histamina, serotonina) y pequeñas proteínas (citocinas, factores de crecimiento, interleucinas) que representan información específica destinada a las células capaces de utilizar esta información gracias a la presencia de receptores específicos en su membrana plasmática. Los mediadores de la inflamación son de origen plasmático (sintetizados por el hígado) o celular.

3.4.1 Metabolitos del ácido araquidónico.

El ácido araquidónico (AA) es un derivado del ácido graso esencial ácido linoléico, con muchos enlaces dobles, que se encuentra normalmente esterificado en forma de fosfolípido en las membranas celulares; la presencia de dobles enlaces ofrece a la molécula varios sitios potenciales de oxidación, enzimática y química, que junto con el posterior reordenamiento, permite la formación de diferentes lípidos con distintas actividades biológicas; el ácido araquidónico es, pues, precursor de diversas moléculas.



El ácido araquidónico es sintetizado en el hígado a partir del ácido linoleico. Una vez liberado, el AA puede metabolizarse por dos vías:

- Las ciclooxigenasas (la forma constitutiva COX-1 y la inducible COX-2) generan intermediarios que, después de ser procesados por enzimas específicas, producen las prostaglandinas (PGD₂ producido por células cebadas, PGE₂ por macrófagos y células endoteliales, entre otros) y los tromboxanos (TXA₂, el principal metabolito del AA generado por las plaquetas); el endotelio vascular carece de tromboxano sintetasa, pero posee una prostaciclina sintetasa, y por tanto genera prostaciclina (PGI₂).
- Las lipooxigenasas generan intermediarios de los leucotrienos y las lipoxinas.

Los derivados del ácido araquidónico (también denominados eicosanoides) sirven como señales intra o extracelulares en una gran variedad de procesos biológicos, entre ellos la inflamación y la hemostasis. Sus efectos principales son:

- Prostaglandinas (PGD₂, PGE₂): vasodilatación, dolor y fiebre.
- Prostaciclina (PGI₂): vasodilatación e inhibición de la agregación plaquetaria.
- Tromboxanos (TXA₂): vasoconstricción y activación de la agregación plaquetaria.
- Leucotrienos: LTB₄ es quimiotáctico y activador de los neutrófilos, los otros leucotrienos son vasoconstrictores, inducen el broncoespasmo y aumentan la permeabilidad vascular (mucho más potentes que la histamina).
- Lipoxinas: vasodilatación, inhibición de la adhesión de los PMN; estos metabolitos del AA producen una disminución de la inflamación, por lo que intervienen en la detención de la inflamación; a diferencia del resto de los derivados del AA, necesitan de dos tipos celulares para ser sintetizados: los neutrófilos producen intermediarios de la síntesis, que son convertidos en lipoxinas por plaquetas al interactuar con los neutrófilos.

3.4.2 Aminas vasoactivas: histamina y serotonina.

Histamina y serotonina son las dos principales aminas vasoactivas, llamadas así por su importante acción sobre los vasos. Se almacenan ya preformados en gránulos, dentro de las células que los producen, por lo que son mediadores precoces de la inflamación. El principal productor de histamina son las células cebadas también se produce por los basófilos y las plaquetas. En el caso de las células cebadas, la histamina se libera cuando estas células producen desgranulación, en respuesta a diferentes tipos de estímulos:

- Daño físico, como traumatismo, frío o calor.
- Unión de anticuerpos a las células cebadas, que es la base de las reacciones alérgicas.
- Unión de elementos del sistema del complemento denominados anafilotoxinas (sobre todo C4a, C3a y C5a).
- Proteínas que inducen la liberación de histamina derivadas de leucocitos.
- Neuropeptidos, por ejemplo la sustancia P.

- Citoquinas (IL-1, IL-8).

La histamina dilata las arteriolas y aumenta la permeabilidad de las vénulas. Es el principal mediador del aumento transitorio inmediato de la permeabilidad vascular, produciendo espacios interendoteliales en las vénulas que favorecen la salida del exudado plasmático. Este efecto se realiza a través de receptores H1 presentes en las células endoteliales.

La serotonina es otro mediador preformado que produce efectos similares. Está presente en las plaquetas y en ciertas células neuroendocrinas, por ejemplo en el tracto gastrointestinal. La liberación de serotonina (e histamina) se activa cuando las plaquetas se agregan en contacto con el colágeno, la trombina, ADP y complejos antígeno-anticuerpo.

3.4.3 Citocinas

Las citocinas son pequeñas proteínas (entre 5 y 20 kD) que permiten el intercambio de información entre las diferentes células durante el proceso de inflamación, la hematopoyesis y las respuestas inmunes. Los factores de crecimiento que utilizan las células epiteliales para estimular su renovación son asimismo citocinas.

En general, las citocinas se pueden considerar como hormonas con un radio de acción limitado, a excepción de IL-1 y TNF- α , que funcionan como verdaderas hormonas, transmitiendo información a través de todo el organismo.

Las citocinas liberadas por los macrófagos durante la inflamación van a afectar a las células endoteliales, los PMN (durante la fase aguda) y después los fibroblastos y de nuevo las células endoteliales durante la fase de reparación. La información emitida por una citocina sólo será recibida por aquellas células que presenten receptores específicos para esa citocina. Los mensajes de las citocinas son múltiples, los principales son:

- La proliferación (factores de crecimiento).
- La diferenciación.
- La migración (quimiocinas).
- La apoptosis (familia TNF).
- Acción pro-inflamatoria (IL-1 y TNF- α).

Algunos mensajes muy importantes, como la estimulación de los linfocitos T, son emitidos por muchas citocinas. Esta redundancia asegura la transmisión de la información.

3.4.4 Factor Activador de las Plaquetas.

El Factor Activador de las Plaquetas (PAF) es otro mediador derivado de fosfolípidos. Se encuentra en plaquetas, células cebadas y basófilos. Sus acciones principales son:

- Agregación de las plaquetas.
- Vasoconstricción y broncoconstricción.
- Adhesión leucocitaria al endotelio.
- Quimiotaxis.
- Degranulación y estallido oxidativo.
- Activación de la síntesis de eicosanoides.

3.4.5 Radicales Libres de Oxígeno (RLO).

Los radicales libres de oxígeno son un tipo de especies reactivas del oxígeno (ERO, o también ROS, por sus siglas en inglés). Estos radicales pueden liberarse al medio extracelular por los leucocitos después de que hayan sido activados por la presencia de microorganismos, quimiocinas, complejos inmunes, o después de la fagocitosis. Su producción depende de la activación del sistema NADPH oxidasa. Las principales especies producidas intracelularmente son el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno H_2O_2 y el radical hidroxilo (OH). El anión superóxido puede combinarse con el óxido nítrico para formar especies reactivas del nitrógeno, como los peroxinitritos. Estas sustancias atacan todos los materiales biológicos (ADN, proteínas, lípidos), bien arrancando electrones, arrancando átomos de hidrógeno o adicionándose sobre los enlaces dobles: reaccionan como potentes oxidantes. La consecuencia es, por tanto, la alteración y la posterior pérdida de función de las moléculas afectadas.

La liberación extracelular de estas potentes sustancias a bajas concentraciones activan quimiocinas, citocinas y moléculas de adhesión leucocitaria endotelial, amplificando la respuesta inflamatoria. Están implicados en las siguientes respuestas inflamatorias:

- Daño de las células endoteliales, que consecuentemente produce un aumento de la permeabilidad vascular, cuando los PMN se adhieren al endotelio, si se activan, pueden no sólo liberar estos productos, sino inducir la producción de RLO en el endotelio.
- Daño a otras células, como glóbulos rojos o células del parénquima.
- Inactivación de antiproteasas, como la Alfa 1-antitripsina, lo cual provoca un incremento de la destrucción tisular, esto ocurre, por ejemplo, en el enfisema pulmonar.

El plasma, los fluidos tisulares y las células poseen mecanismos antioxidantes para protegerse de los radicales libres de oxígeno. Entre estos se encuentran:

- La enzima superóxido dismutasa (SOD), que convierte el anión superóxido en peróxido de hidrógeno.
- La enzima catalasa, que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno generando agua y oxígeno.
- La glutatión peroxidasa (GPX), otro potente antioxidante del H_2O_2 .
- El ácido úrico, un potente antioxidante presente en el plasma en una concentración mucho mayor que el ascorbato (vitamina C).
- La proteína ceruloplasmina, la principal transportadora de cobre en el suero.
- La fracción plasmática libre de hierro de la proteína transferrina.

Además existen compuestos de origen alimentario con capacidad antioxidante que también intervienen en la neutralización de RLO:

- El α -tocoferol (vitamina E), liposoluble, con capacidad de protección de las membranas celulares.
- Los carotenoides (como el β -caroteno) y los polifenoles (como el ácido caféico y la quercetina).
- El ascorbato (vitamina C), hidrosoluble, capaz de regenerar los demás antioxidantes, como el glutatión o el α -tocoferol.

Por ello, el efecto negativo de los RLO se observa si se produce un desequilibrio debido a una producción exagerada de estas sustancias o por una disminución de los sistemas de defensa, enzimáticos y no enzimáticos.

3.4.6 Constituyentes de los lisosomas de los leucocitos.

Los neutrófilos y los monocitos contienen gránulos lisosomiales necesarios para la digestión de los materiales fagocitados. Si estos compuestos se vierten al exterior, pueden amplificar la respuesta inflamatoria, ya que tienen un efecto destructor sobre los tejidos (elastasas, colagenasas, proteasas). Para contrarrestar su efecto, existen antiproteasas en el suero, fundamentalmente la α 1-antitripsina, que es el principal inhibidor de la elastasa. Otra antiproteasa importante es la α 2-macroglobulina.

3.4.7 Neuropéptidos.

Los neuropéptidos son sustancias segregadas por los nervios sensoriales y varios tipos de leucocitos, y juegan un papel en la propagación de la respuesta inflamatoria. Entre ellos se encuentran la sustancia P y la neurocinina A, pertenecientes a la familia de los taquininos y producidos en el SNC y periférico. Los pulmones y el tracto gastrointestinal son ricos en fibras que contienen sustancia P. Esta tiene muchas funciones: transmisión de las señales dolorosas, regulación de la presión sanguínea, estimulación de la secreción de las células endocrinas y aumento de la permeabilidad vascular.

3.4.8 Medidores derivados de proteínas plasmáticas.

Una gran variedad de fenómenos en la respuesta inflamatoria están mediados por proteínas plasmáticas que pertenecen a tres sistemas interrelacionados:

- En el sistema del complemento las proteínas de este sistema están presentes en el plasma en forma inactiva, y cuando se activan se convierten en enzimas proteolíticas que degradan otras proteínas del complemento, formando una cascada; los elementos que participan en el proceso inflamatorio son C3a, C5a y en menor

medida C4a, denominadas anafilotoxinas, que estimulan la liberación de histamina por las células cebadas, y por tanto producen vasodilatación; C5a además tiene capacidad quimiotáctica y activa la lipooxigenasa, generando leucotrienos.

- En la coagulación, la inflamación aumenta la producción de algunos factores de la coagulación y convierte al endotelio en trombogénico; en contrapartida, la trombina promueve la inflamación mediante la activación de receptores denominados PAR (protease-activated receptors), que activan diferentes respuestas: movilización de selectina-P, producción de quimiocinas y citocinas, expresión de receptores para integrinas en el endotelio, inducción de la COX-2 y producción de prostaglandinas, producción de NO y PAF, y cambios en la forma endotelial. Como la coagulación y la inflamación pueden iniciar un círculo vicioso de amplificación, la interferencia con la coagulación puede ser una estrategia terapéutica en algunas patologías para reducir la inflamación.
- Las quininas son péptidos vasoactivos derivados de proteínas plasmáticas, denominadas quininógenos, por la acción de enzimas específicas denominadas calicreínas; el sistema de quininas está íntimamente ligado a la coagulación. La forma activa del factor XII, FXIIa, convierte la precalicreína del plasma en calicreína, que corta una proteína del plasma de alto peso molecular para generar bradiquinina. La bradiquinina aumenta la permeabilidad vascular y causa contracción del músculo liso, dilatación de los vasos y dolor, efectos similares a los de la histamina. Por otro lado, la calicreína tiene efecto quimiotáctico, convierte C5 del sistema del complemento en C5a (también quimiotáctico) y también el plasminógeno en plasmina para degradar el coágulo secundario.²

De estos tres sistemas, probablemente los mediadores de la inflamación más importantes in vivo son bradiquinina, C3a, C5a y trombina.

Papel de los mediadores en las diferentes reacciones de la inflamación.

Papel en la inflamación	Mediadores
Vasodilatación	<ul style="list-style-type: none">• Prostaglandinas• Óxido nítrico• Histamina
Aumento de la permeabilidad vascular	<ul style="list-style-type: none">• Histamina y Serotonina• C3a y C5a (mediado por vasoaminas)• Bradiquinina• Leucotrienos C4, D4, E4• Factor activador de las plaquetas (PAF)• Sustancia P
Quimiotaxis, reclutamiento de leucocitos y activación	<ul style="list-style-type: none">• TNF, IL-1• Quimioquinas• C3a, C5a• Leucotrieno B4• Productos bacterianos, como péptidos N-formilmetil
Fiebre	<ul style="list-style-type: none">• TNF, IL-1• Prostaglandinas
Dolor	<ul style="list-style-type: none">• Prostaglandinas• Bradiquinina
Daño tisular	<ul style="list-style-type: none">• Enzimas lisosomiales de los leucocitos• Especies reactivas del oxígeno• Óxido nítrico

3

3.5 Inflamación crónica.

Cuando la inflamación se mantiene durante un tiempo prolongado (semanas o meses), se habla de inflamación crónica, en la que coexisten el daño tisular y los intentos de reparación, en diversas combinaciones.² Puede producirse por mantenimiento de la inflamación aguda (si no se resuelve la causa), o bien empezar de manera progresiva y poco evidente, sin las manifestaciones de la inflamación aguda. Este segundo caso es el responsable del daño tisular de algunas de las enfermedades humanas más invalidantes, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis, la tuberculosis o la fibrosis pulmonar.

Entre las causas de la inflamación crónica se pueden distinguir:

- **Infecciones persistentes**

En el caso de microbios difíciles de erradicar, como micobacterias, ciertos hongos, virus y parásitos. Pueden dar lugar a la formación de granulomas.

- **Enfermedades mediadas por el sistema inmune**

En algunas enfermedades en las que la respuesta inmunitaria se produce de manera exagerada o inapropiada en relación al agente desencadenante, la inflamación crónica juega un papel importante en el aspecto patológico de las mismas. En estos casos, como la respuesta inmune está sobredimensionada, no produce beneficio, sino daño.

Por ejemplo:

- En las enfermedades autoinmunes, el individuo produce anticuerpos contra sus propios tejidos, provocando una reacción continua que resulta en inflamación crónica y daño de los tejidos.
- En otros casos, se produce una respuesta inmune exagerada frente a microorganismos.
- En las reacciones alérgicas, se produce una respuesta desproporcionada a agentes ambientales comunes, como en el asma bronquial.

En este tipo de enfermedades, se suelen producir brotes repetidos de inflamación, por lo que se pueden observar características mixtas de la inflamación aguda y crónica.

- **Exposición prolongada a agentes tóxicos**

Dichos agentes pueden ser:

- Exógenos, como el polvo de sílice, un material inerte y no degradable, que inhalado por periodos prolongados puede producir la enfermedad inflamatoria de los pulmones conocida como silicosis.
- Endógenos, la acumulación de lípidos endógenos tóxicos en los vasos sanguíneos produce una inflamación crónica de los mismos, causando aterosclerosis.

3.5.1 Características.

Mientras que la inflamación aguda se caracteriza por la aparición de cambios vasculares, edema e infiltración de neutrófilos, la inflamación subcrónica presenta las siguientes características distintivas:

- Infiltración con células mononucleares: macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
- Destrucción de tejidos, debido a la persistencia del agente y/o de las células inflamatorias.
- Intentos de reconstrucción, reemplazando el tejido dañado con tejido conectivo con proliferación de vasos (angiogénesis) y sobre todo fibrosis.

Además de los infiltrados celulares, en la inflamación crónica es muy importante el crecimiento de vasos sanguíneos (angiogénesis) y linfáticos, estimulado por factores de crecimiento como es el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), producidos por macrófagos y células endoteliales.

3.5.2 Células implicadas en la inflamación crónica

3.5.2.1 Macrófagos

Los macrófagos son el tipo celular dominante en la inflamación crónica. Son uno de los componentes del sistema fagocítico mononuclear, también denominado sistema retículo-endotelial, que está formado por células originadas en la médula ósea. Los macrófagos son células residentes en los tejidos, que se originan a partir de los monocitos del plasma. Sin embargo, mientras que los monocitos tienen una vida media corta (1 día), los macrófagos tisulares sobreviven durante meses o años. Según el tejido en el que se encuentran, los macrófagos tisulares reciben nombres diferentes: por ejemplo, los histiocitos del tejido conjuntivo, las células de Kupffer del hígado, las células de Langerhans de la epidermis, los osteoclastos del tejido óseo, la microglía del SNC o los macrófagos alveolares del pulmón. Los macrófagos tisulares son células centinela, conjuntamente con las células cebadas, ya que presentan receptores específicos capaces de detectar agentes infecciosos, como los receptores de tipo Toll. La unión de estos receptores a sus ligandos produce la activación de los macrófagos, proceso que puede inducirse además por la presencia de citocinas como el interferón- γ (IFN- γ), una molécula segregada por los linfocitos T activados y por las células NK.

Los productos de las células cebadas activadas eliminan microorganismos e inician el proceso de reparación tisular, y son los responsables de la mayor parte de los daños tisulares en la inflamación crónica. Entre estos productos, podemos destacar las especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno, así como las enzimas lisosomales, citocinas, factores de crecimiento y otros mediadores de la inflamación. Algunos de estos productos, como los radicales libres, son tóxicos y destruyen tanto a los microorganismos como los tejidos; otros atraen otros tipos celulares o inducen la producción de colágeno por parte de los fibroblastos o la angiogénesis. De hecho, podrían existir dos poblaciones diferentes de macrófagos activados, en función del tipo de activación que hayan sufrido:

- Activación por microorganismos o IFN- γ ; producción de sustancias inflamatorias dañinas para los tejidos (ROS y RNS, proteasas, citocinas, factores de coagulación, metabolitos del ácido araquidónico).

- Activación por IL-4 y otras citocinas; producción de sustancias mediadoras de la reparación tisular (factores de crecimiento, citocinas fibrogénicas, factores angiogénicos).

La artillería destructiva a disposición de los macrófagos les convierte en unos eficaces combatientes en la lucha contra la invasión por agentes patógenos, pero se convierte en un arma temible de doble filo cuando se dirige hacia los propios tejidos. Por ello, la destrucción de tejidos es un elemento característico de la inflamación crónica, ya que a diferencia de la inflamación aguda, en la que los macrófagos desaparecen cuando se elimina la causa (mueren o entran en las vías linfáticas), en la inflamación crónica los macrófagos se acumulan, aumentando los daños colaterales.

3.5.2.2 Linfocitos.

Los linfocitos son células que se movilizan en la respuesta específica del sistema inmune, activándose con el objetivo de producir anticuerpos y células capaces de identificar y destruir al microorganismo patógeno. Los macrófagos segregan citocinas (sobre todo TNF e IL-1) e interleucinas capaces de reclutar leucocitos a partir de la sangre y movilizarlos hacia la zona afectada. Las interacciones entre linfocitos y macrófagos son bidireccionales, ya que los macrófagos reclutan y activan linfocitos, y estos a su vez segregan citocinas (sobre todo IFN- γ) con una potente capacidad de activar macrófagos. De manera que una vez que los linfocitos entran en acción, la inflamación tiende a agravarse, convirtiéndose en crónica y severa.

3.5.2.3 Células plasmáticas.

Las células plasmáticas se diferencian a partir de los linfocitos B activados. Su función consiste en la producción de grandes cantidades de anticuerpos dirigidos contra el microorganismo patógeno, o en ocasiones contra antígenos endógenos (en las enfermedades autoinmunes). En algunos pacientes con inflamación crónica (como la artritis reumatoide), las células plasmáticas, linfocitos y células presentadoras de antígenos se

acumulan en nódulos similares a los ganglios linfáticos, que contienen incluso centros germinales bien definidos. Estos nódulos se denominan órganos linfoides terciarios.

3.5.2.4 Eosinófilos.

Los eosinófilos son abundantes en reacciones inflamatorias mediadas por IgE y en infecciones por parásitos. Estos leucocitos tienen gránulos que contienen la proteína básica principal, una proteína catiónica muy básica que es tóxica tanto para los parásitos como para los tejidos. Tienen por ello un papel importante en la destrucción de tejidos en reacciones inmunes, como las alergias.

3.5.2.5 Células cebadas.

Las células cebadas, como los macrófagos, son células centinelas ampliamente distribuidas por los tejidos, que reaccionan al estrés físico (calor, frío, presión), y participan tanto en la inflamación aguda como en la crónica. En sus membranas tienen receptores para IgE, que en reacciones de hipersensibilidad inmediata, estimulan la desgranulación, liberando mediadores como histamina y prostaglandinas. Este tipo de reacción ocurre en las reacciones alérgicas, pudiendo llegar a producir un choque anafiláctico. En la inflamación crónica, como presentan una gran variedad de mediadores, pueden promover o limitar la inflamación, en función de las circunstancias.

3.5.2.6 Neutrófilos.

Aunque los neutrófilos (PMN) son característicos de la inflamación aguda, en muchos casos de inflamación crónica puede detectarse la presencia de PMN durante meses, bien debido a la persistencia de la infección o de mediadores producidos por los linfocitos. Esto

ocurre por ejemplo en la osteomielitis o en el daño crónico de los pulmones inducido por el humo del tabaco y otros irritantes.²

3.5.3 Inflamación granulomatosa.

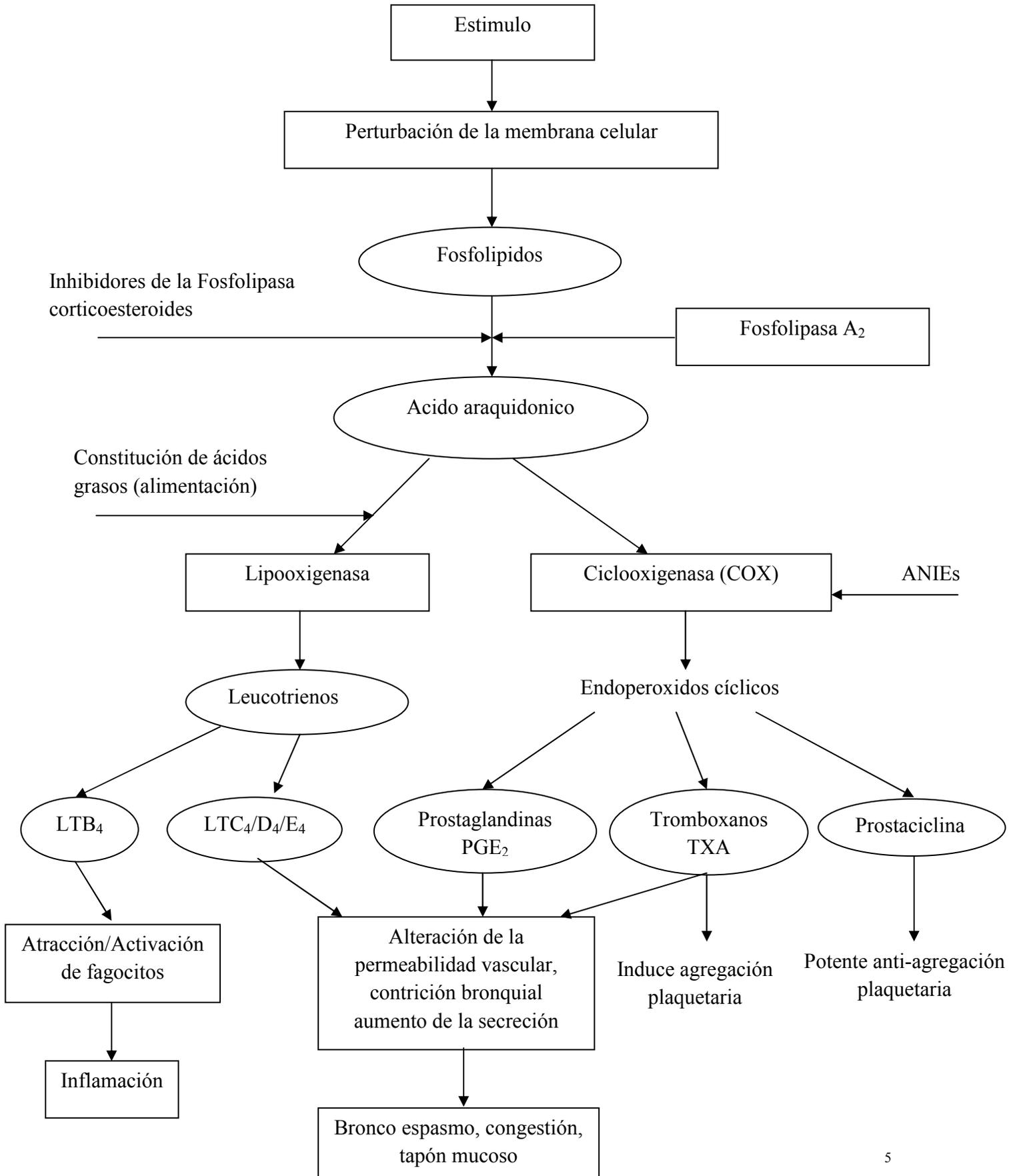
Es un patrón característico de inflamación crónica que sólo se encuentra en algunos casos bien definidos de inflamación crónica. Un granuloma es un intento celular de aislar un cuerpo extraño que no puede ser fagocitado. Normalmente se produce una fuerte activación de linfocitos T, que induce a su vez la activación intensa de los macrófagos. Como resultado de esta activación, se producen los granulomas, que son focos de inflamación crónica, en los que el agente patógeno está en el centro, rodeado por macrófagos transformados en células pseudo-epiteliales, rodeados por leucocitos mononucleares, sobre todo linfocitos y en ocasiones células plasmáticas. El prototipo de enfermedad granulomatosa es la tuberculosis, pero los granulomas pueden identificarse en otras enfermedades, como la sífilis, vasculitis, sarcoidosis, lepra o la enfermedad de Crohn³.

3.6 Agentes Antiinflamatorios.

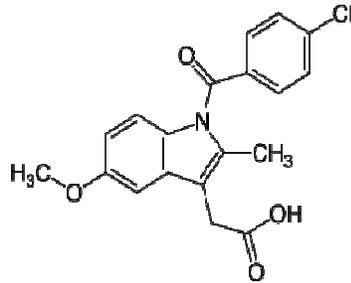
3.6.1 Antiinflamatorios no esteroideos.

Los antiinflamatorios no esteroideos AINEs son un grupo variado y químicamente heterogéneo de fármacos principalmente antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos, por lo que reducen los síntomas de la inflamación, el dolor y la fiebre respectivamente. Todos ejercen sus efectos por acción de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa.

Los AINEs inhiben la actividad tanto de la ciclooxigenasa-1 (COX-1) como a la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y, por lo tanto, la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. Se piensa que es la inhibición de la COX-2 la que en parte conlleva a la acción antiinflamatoria, analgésica y antipirética de los AINEs, sin embargo, aquellos que simultáneamente inhiben a la COX-1 tienen la capacidad de causar hemorragias digestivas y úlceras. Por lo tanto, se enfatizan las ventajas de inhibidores selectivos para la COX-2.⁴



- Indometacina



La indometacina es un medicamento de tipo antiinflamatorio no esteroideo derivado del indol metilado, el cual inhibe la producción de prostaglandina por lo que se indica para el alivio del dolor, fiebre y la inflamación. La actividad de la indometacina se logra por su capacidad para inhibir la enzima ciclooxigenasa (COX-1), responsable de la síntesis de prostaglandinas. El efecto es más intenso sobre la COX-1 que sobre la COX-2.

La indometacina se absorbe de manera rápida ($t_{m\acute{a}x} = 2$ horas) y casi completa (90% en 4 horas) por vía oral, y se une en un 90% a las proteínas del plasma sanguíneo. Presenta un importante fenómeno de recirculación enterohepática, lo que explica la variabilidad de su vida media plasmática (1-6 horas). El 10-20% se elimina sin metabolizar por secreción tubular activa. Se distribuye por todo el organismo y en el líquido sinovial alcanza concentraciones similares a las del plasma sanguíneo en 5 horas.⁶

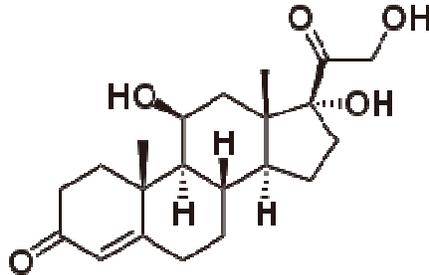
3.6.2 Antiinflamatorios esteroideos.

Los antiinflamatorios naturales, segregados por el propio organismo, son los derivados de los corticoides, sustancias de origen esteroideo de potente acción antiinflamatoria, pero que cursan con importantes efectos secundarios.

Los glucocorticoides ejercen una poderosa acción antiinflamatoria, sea cual fuere la causa de la inflamación (infecciosa, química, física o inmunológica), pudiendo inhibir tanto las manifestaciones inmediatas de la inflamación (rubor, dolor, etc.) como tardías, entendiéndose por tales ciertos procesos de cicatrización y proliferación celular. Inhiben la dilatación vascular, reducen la transudación líquida y la formación de edema, disminuyen el exudado celular y reducen el depósito de fibrina alrededor, son necesarias dosis farmacológicas, pero la respuesta es tan intensa que los glucocorticoides son los antiinflamatorios más eficaces.

Varios son los mecanismos responsables de estas acciones. Los glucocorticoides inhiben el acceso de los leucocitos al foco inflamatorio, interfieren en la función de los fibroblastos y de las células endoteliales y suprimen la producción o los efectos de numerosos mediadores químicos de la inflamación. En general se afecta más la llegada de leucocitos al foco que su función y se afecta más la inmunidad celular que la humoral.

- Hidrocortisona



La hidrocortisona, es un corticoide sintético con similares mecanismos de acción que el glucocorticoide natural, es decir, induce profundos y rápidos cambios en el metabolismo, entre estos: protege los niveles de glucosa mediante inducción de glucogenosíntesis, promueve la gluconeogénesis a partir de las proteínas, facilita lipólisis y tiene la capacidad de suprimir las manifestaciones inflamatorias, gracias a que bloquean parcialmente las funciones de los neutrófilos (liberación de enzimas lisosómicas, estallido respiratorio). Los glucocorticoides antagonizan la diferenciación de los macrófagos e inhiben muchas de sus funciones: inhiben la producción de monocitos en la médula ósea, inhiben la expresión de antígenos de histocompatibilidad de clase II, bloquean la síntesis de numerosas citocinas inflamatorias (IL-1 e IL-6, factor de necrosis tumoral, etc.), disminuyen la producción de eicosanoides inflamatorios e inhiben la expresión de la NO-sintasa inducible.

El cortisol es digerido por la zona fasciculada de la corteza suprarrenal, una de las dos partes de la glándula suprarrenal. Esta liberación está controlada por el hipotálamo en respuesta al estrés o a un nivel bajo de glucocorticoides en la sangre. La secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) por parte del hipotálamo desencadena la secreción de la hipófisis de la hormona suprarrenal corticotropina (ACTH); esta hormona es transportada por la sangre hasta la corteza suprarrenal, en la cual desencadena la secreción de glucocorticoides.

El cortisol se une a proteínas en el plasma sanguíneo, principalmente a la globulina fijadora de cortisol (CBG) y un 5% a la albúmina, el resto, entre 10 y 15% se encuentra circulando libre. Cuando la concentración del cortisol alcanza niveles de 20-30 g/dL en la sangre, la CBG se encuentra saturada y los niveles de cortisol plasmáticos aumentan velozmente.

La vida media del cortisol es de 60 - 90 minutos, aunque tiende a aumentar con la administración de hidrocortisona, en el hipertiroidismo, la insuficiencia hepática o en situaciones de estrés.⁷

3.7 Fundamento de las técnicas empleadas para determinar el grado de afecciones causadas por procesos inflamatorios.

En general, para la evaluación de sustancias con interés como antiinflamatorios, será necesario caracterizar su acción sobre diferentes mediadores y componentes implicados en la reacción inflamatoria, solamente hemos seleccionado dos marcadores de respuesta inflamatoria y dos técnicas sencillas que son utilizadas en los laboratorios de investigación para evaluar la acción antiinflamatoria.

Las pruebas seleccionadas son:

- Determinación de ceruloplasmina mediante la técnica de Inmunodifusión radial (Técnica de Mancini)
- Valoración de la concentración de óxido nítrico (NO) mediante la reacción de Griess.

3.7.1 Ceruloplasmina.

La ceruloplasmina es una α_2 Globulina con una movilidad electroforética de 4.6, un peso molecular 132 kDa y un punto isoeléctrico de 4.4.

Esta proteína es la principal transportadora de cobre en la circulación, se sintetiza principalmente en los hepatocitos como una cadena polipeptídica simple y se secreta como una α_2 Glicoproteína; pero también se encuentra en monocitos, astrocitos y células de Sertoli; se caracteriza desde el punto de vista estructural 3 tipos de unión para el cobre con

características espectroscópicas diferentes y desde el punto de vista funcional por catalizar la reducción de una molécula de oxígeno con formación de una de agua sin la liberación de intermediarios potencialmente tóxico.

Algunas de sus funciones son:

- Transporte de cobre.
- Mantener la homeóstasis del hierro como ferroxidasa catalizando la conversión de Fe^{2+} en Fe^{3+}
- Presenta propiedades antioxidantes contra la peroxidación lipídica y oxidante ante varias aminos.
- Coagulación.

Principales padecimientos que muestran los niveles de ceruloplasmina.

Niveles por debajo de lo normal	Niveles arriba de lo normal
Síndrome de Menkes	Embarazo
Enfermedad de Wilson	Linfoma
Hemocromatosis hereditaria	Infecciones agudas o crónicas
Desnutrición	Artritis reumatoide
Nefrosis	Enfermedades hepáticas
Síndrome de mala absorción	Pelagra

8

Esta proteína se determina por la técnica de inmunodifusión radial.

3.7.1.1 Inmunodifusión radial o técnica de Mancini.

Este método se basa en mezclar los anticuerpos en una solución de agarosa mantenida entre 40 y 45° C, al enfriarse la agarosa gelifica, constituyendo el soporte semisólido donde los anticuerpos se someten a una interacción con los antígenos homólogos. Los antígenos solubles colocados en las perforaciones practicadas en el gel se difunden radialmente, al tiempo que interaccionan con los anticuerpos incluidos en el mismo, originando al alcanzarse las concentraciones de equivalencia, halos o anillos definidos por precipitación.

3.7.1.2 Reacción antígeno- anticuerpo.

Una reacción antígeno-anticuerpo es la interacción del antígeno con su respectivo anticuerpo, este acoplamiento estructural se da por varias fuerzas débiles que disminuyen con la distancia, podemos citar como ejemplo los puentes de hidrogeno y la fuerzas de Van der Waals.

Esta unión depende de la complementariedad entre ambas moléculas por lo que se efectúa a través de múltiples enlaces no covalentes entre una parte de antígeno y los aminoácidos del sitio de unión del anticuerpo. La reacción se caracteriza por ser específica, rápida, reversible y espontanea.

3.7.1.3 Reacción de precipitación.

La reacción de precipitación se efectúa cuando un anticuerpo, por lo menos divalente con un antígeno soluble y esto conlleva a la formación de agregados que precipitan, para que tal precipitación ocurra en forma máxima se necesitan que tanto el antígeno como el anticuerpo se hallen en concentraciones optimas, cuando cualquiera de los reaccionantes se encuentre en exceso no se pueden formar grandes agregados antígeno-anticuerpo; en este caso el antígeno se encuentra disuelto y al unirse al anticuerpo se forman unos macro-complejos moleculares semejantes a una red tridimensional, que debido a su tamaño precipita. Esta etapa se acelera con el aumento de la temperatura y además es dependiente de la concentración de electrolitos.⁹

3.7.2. El oxido nítrico (NO).

El NO es un radical libre gaseoso que en los mamíferos se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina por acción de la enzima NO sintetasa. Tiene funciones importantes en el organismos como son: reducir la agregación y adhesión plaquetaria, en el sistema vascular actúa como regulador de la presión sanguínea, el NO se sintetiza en las células del

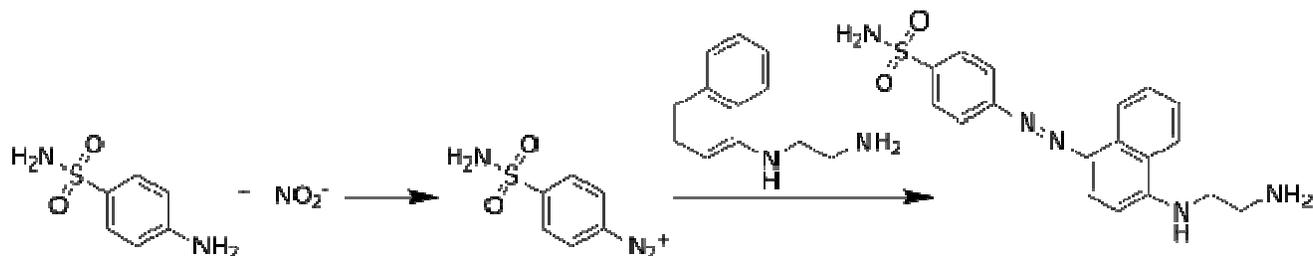
endotelio, en la capa de células que forma el interior de los vasos sanguíneos y actúa como vasodilatador de las arterias de mayor musculatura. Se trata de una reacción molecular compleja que necesita oxígeno molecular y coenzimas como la tetrahidrobiopterina, NADPH, FAD y FMN. Como productos de la reacción aparecen el NO y L-citrulina. Este radical libre gaseoso se difunde fácilmente desde las células donde se produce a las células musculares lisas vasculares, en donde estimula a la guanilato ciclasa soluble y cataliza la formación de GMPC que provoca vasodilatación.

Existen tres isoenzimas de NOS: inducible (iNOS), neuronal constitutiva (nNOS) y endotelial constitutiva (eNOS). Las isoenzimas constitutivas generan pequeñas cantidades de NO, mientras que la isoforma (iNOS) produce cantidades mucho mayores que caracterizan algunos estados patológicos en los que se induce la expresión de esta enzima. La iNOS se expresa en macrófagos, hepatocitos, neutrofilos, musculatura lisa y células endoteliales en respuesta a diversos estímulos inmunológicos como el IF TNF α . También es inducido por el propio lipopolisacarido bacteriano a través de la activación del NF- κ B.

La determinación del radical NO por sí sólo, es difícil debido a su naturaleza como radical y su corta vida media. Por lo tanto, la medida de la producción del radical NO se realiza mediante la determinación de productos finales del NO, nitratos y nitritos en suero. Estas medidas se llevan a cabo con la reacción de Griess, basada en la determinación de nitritos.¹⁰

3.7.2.1 Reacción de Griess.

La prueba de Griess es una prueba química que detecta la presencia de nitritos orgánicos. El nitrito es detectado y analizado por la formación de un color rojo-rosado, sobre el tratamiento de NO₂, que contiene la muestra con la Griess reactivo. Cuando el ácido sulfanílico se agrega, los nitritos forman una sal de diazonio. Cuando se agrega el α -naftilamina, se desarrolla un color rosado.¹¹



4.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En nuestros tiempos, al menos un 80% de los más de 4 mil millones de habitantes del planeta acuden a la medicina tradicional para la atención de problemas primarios de salud utilizando en primer plano plantas¹²; como en nuestro caso, en el cual la mayoría de los habitantes de la Ciudad de México y Área metropolitana así como también reportados Veracruz y Morelos; el tomate es usado como remedio medicinal en problemas respiratorios y dolor de amígdalas, en Michoacán se emplea contra la tosferina y tos, preparando los frutos de distintas maneras por ejemplo; en cocimiento junto con semillas de tamarindo se administra por vía oral contra la tos; por otro lado asado en comal lo aplica lo más caliente que se soporte dando masajes en las amígdalas contrarrestando así la inflamación¹³.

Debido a lo anterior, se consideró importante llevar a cabo los estudios correspondientes para evaluar la actividad antiinflamatoria ya que no se reporta algún informe científico en el que se haya estudiado la efectividad de esta planta medicinal como agente antiinflamatorio.

5.0 OBJETIVOS.

5.1 *Objetivo General.*

- Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa* en ratones albinos, administrado por vía oral en un modelo de inflamación.

5.2 *Objetivos particulares.*

- Preparar extracto acuoso de *Physalis ixocarpa*.
- Determinar la eficacia del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa* sobre un modelo de inflamación aguda y crónica utilizando como estándar indometacina e hidrocortisona respectivamente.
- Verificar la posible toxicidad que pueda presentar el extracto a distintas concentraciones.
- Determinar algunos marcadores de inflamación durante este proyecto como lo son:
 - ceruloplasmina
 - óxido nítrico

6.0 HIPÓTESIS.

Al administrar *Physalis ixocarpa* el proceso inflamatorio inducido en los ratones se inhibirá o disminuirá, comprobando así el efecto antiinflamatorio referido por la población Mexicana.

7.0 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.

Población: Ratones albinos machos con un peso promedio de 32.5g divididos en 5 grupos de 6 ratones cada uno.

Tipo de estudio: Experimental, prospectivo, transversal y longitudinal.

Criterios de inclusión: Ratones albinos machos, sanos con 3 meses de edad con un peso de entre 25 a 40g.

Criterios de exclusión: Ratones hembras, enfermos, que no cumplan con la edad y peso.

Criterios de eliminación: Ratones que presenten lesiones, que enfermen o mueran durante el proyecto de investigación.

8.0 REACTIVOS, EQUIPO Y MATERIAL.

Sustancia de ensayo

Los frutos fueron cosechados en una hortaliza ubicada en la Calzada Chalco, San Gregorio Cuautzingo, Estado de México, en otoño. La suspensión acuosa fue preparada refluendo 150g del fruto, previamente asado sobre un comal con 1L de agua destilada durante 1 hora; posteriormente se purificó por destilación a vacío; obteniendo 4.6g de extracto acuoso de *Physalis ixocarpa*.

Reactivos químicos.

Carragenina al 1% (Sigma Chemical Company), Indometacina (Indocid Merck), Hidrocortisona (flebotid), α -naftilamina, Acido sulfanílico.

Equipo.

1 placa de agitación y calentamiento.	2 riostatos
1 gato hidráulico	1 recirculador
1 estufa	1 rota-vapor
1 balanza analítica	1 espectrofotometro
2 canastillas de calentamiento	1 computadora

Material.

2 matraz bola de 500 ml 24/40	4 pinzas de tres dedos con nuez
1 matraz bola de 1000 ml	1 equipo de disección
1 adaptador para vacío 24/40	10 jeringas de insulina
1 adaptador para termómetro 24/40	10 sondas gástricas
1 termómetro de -20 a 150 °C	1 pletismometro
2 refrigerantes 24/40	5 jaulas
1 trampa para vacío	1 comal
5 mangueras para vacío	4 placas de agaros
3 soportes universales	

Animales.

Se utilizaron ratones albinos machos con una masa corporal comprendida de entre 25 y 40g, mantenidos a temperatura controlada de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con libre acceso a alimento y agua. Los experimentos se realizaron siguiendo las especificaciones emitidas por el Comité de Ética local para el cuidado y uso de animales de laboratorio y de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999¹⁴.

9.0 MÉTODOS.

9.1 Inflamación aguda.

Los animales fueron tratados oralmente con una dosis única de acuerdo al lote al que pertenecían ya que se tenían 30 ratones de los cuales se agruparon en 5 grupos de 6 ratones cada uno. Las dosis del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa* empleadas para los 3 primeros grupos de experimentación fueron de 80, 40 y 20 mg/Kg; como estándar de referencia en el grupo 4 se empleo indometacina empleando 10 mg/kg, mientras que los animales pertenecientes al grupo 5 referente al control negativo recibieron agua destilada. Una hora después que el edema fue inducido en la pata trasera izquierda por la inyección en el cojinete plantar de un agente flogístico en este caso 50 microlitros de carragenina al 1% en solución salina. Posteriormente se tomaron lecturas del volumen de la pata izquierda con ayuda de un pletismómetro en 5 tiempos de 1 hora cada uno empezando desde tiempo 0 después de ser inducidos con carragenina. Al término de la última lectura se sacrificaron todos los animales, se cortaron sus patas traseras y se obtuvieron sus pesos para así determinar la diferencia entre volúmenes de la pata izquierda y derecha con respecto al edema¹⁵.

9.2 Inflamación crónica.

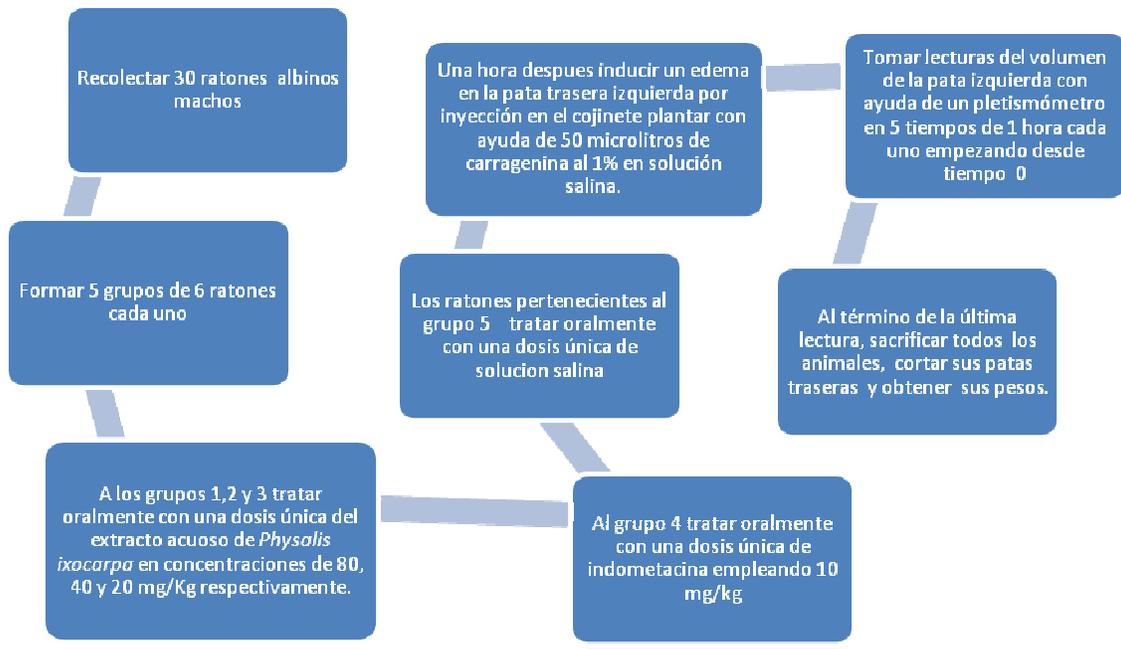
Discos de algodón de 10 mg de peso fueron implantados en nuestros 30 ratones de experimentación en la región inter-escapular. Los animales fueron distribuidos en 5 lotes de 6 ratones cada uno, fueron tratados oralmente con una dosis diaria durante 11 días consecutivos de acuerdo al grupo al que pertenecían. Los 3 primeros grupos fueron tratados con el extracto acuoso de *Physalis ixocarpa* en concentraciones de 80, 40 y 20 mg/Kg respectivamente. Al grupo 4 el cual corresponde al control positivo fue tratado con hidrocortisona en concentraciones de 15 mg/Kg y como último grupo el control negativo fue tratado con solución salina; luego de la última administración se sacrificaron todos los ratones y se extrajeron los granulomas, para la determinación de sus pesos¹⁵.

9.3 Estudio estadístico.

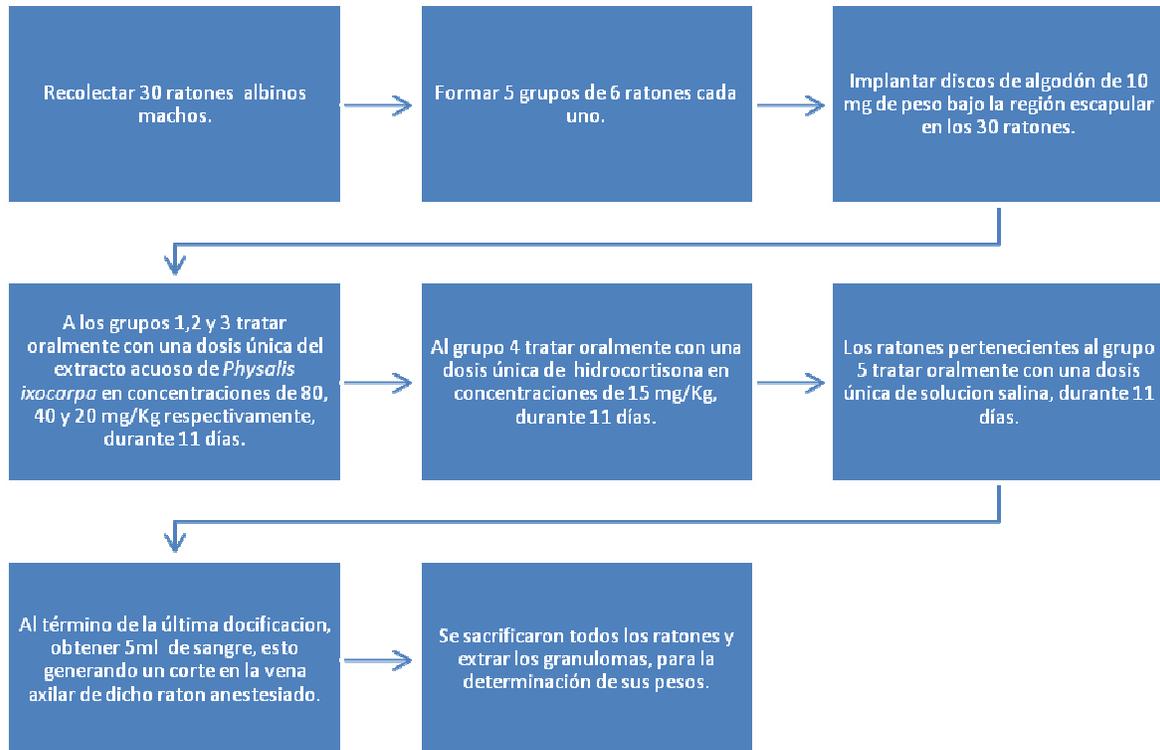
Se realizó el análisis estadístico de los resultados mediante el programa estadístico SPSS versión 11.5 y la técnica estadística usada fue la t de Student, que nos permite identificar si existen diferencias significativas entre el grupo control y el grupo con tratamiento con una confianza del 92%.

10.0 DIAGRAMA DE FLUJO.

10.1 Inflamación aguda.



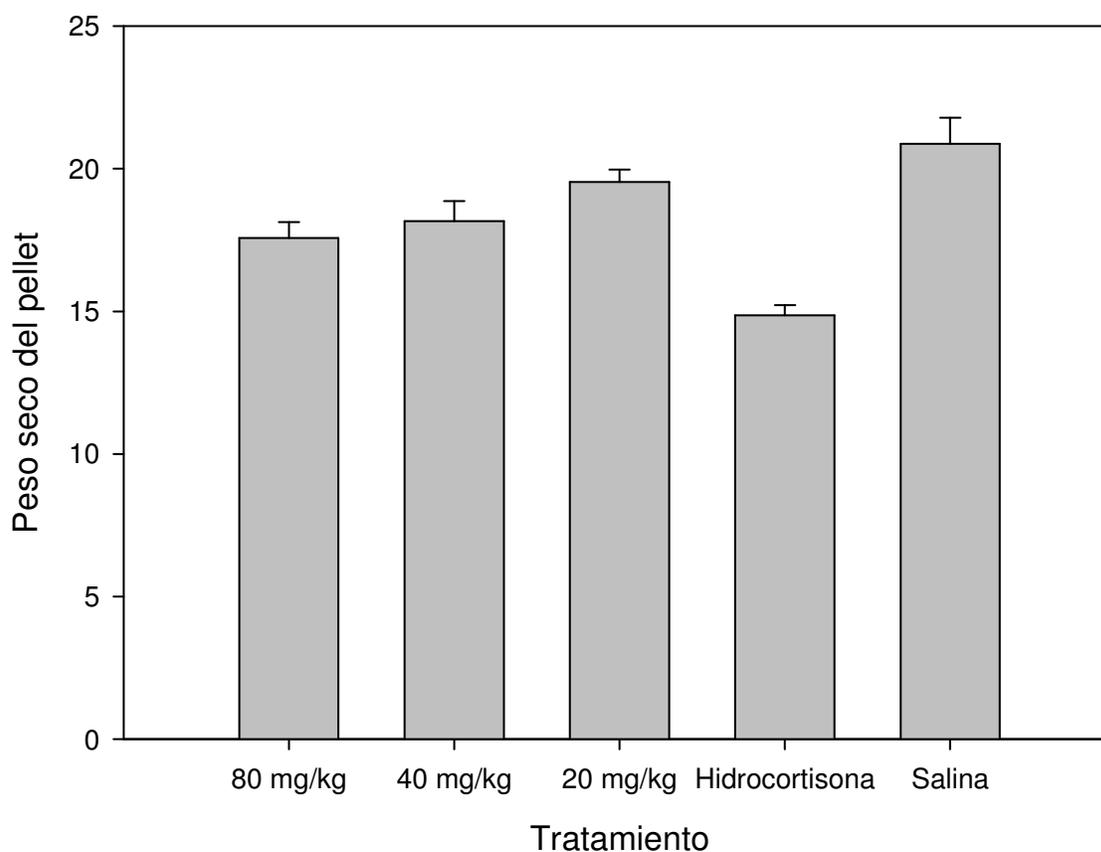
10.2 Inflamación crónica.



11.0 RESULTADOS.

11.1 Resultados del modelo de inflamación crónica.

Comparación de medias de los pesos de Pellets secos con respecto a los tratamientos.

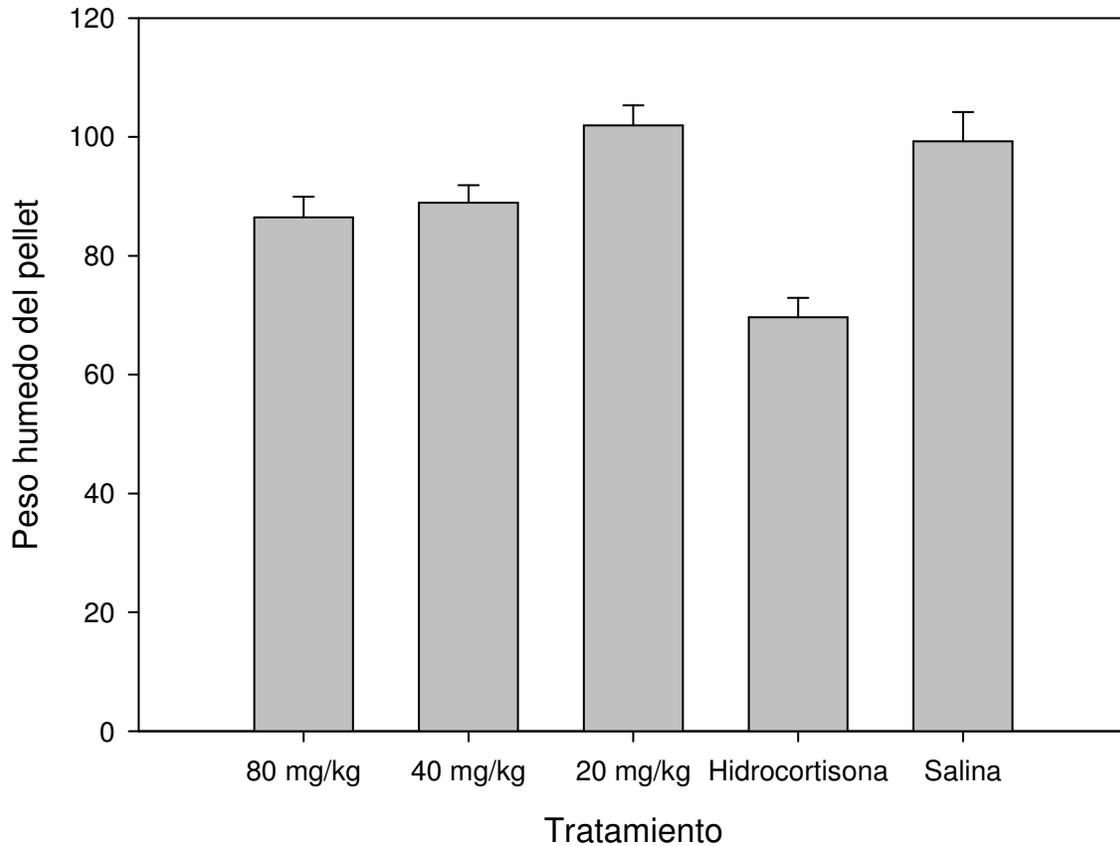


Grafica 1. Pesos secos de los Pellets. Los valores son la media \pm error estándar, $P=0.001$ Salina vs concentración 80, 40 e Hidrocortisone.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	3.300000	.8699085	.007
40 mg/kg	2.706667	.9123677	.048
20 mg/kg	1.333333	.8699085	.552
Hidro cortisone	6.000000	.8699085	.000
Salina	20.866667	.9221954	

Cuadro 1. Comparación de medias de los pesos de Pellets secos con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

Comparación de medias de los pesos de Pellets húmedos con respecto a los tratamientos.

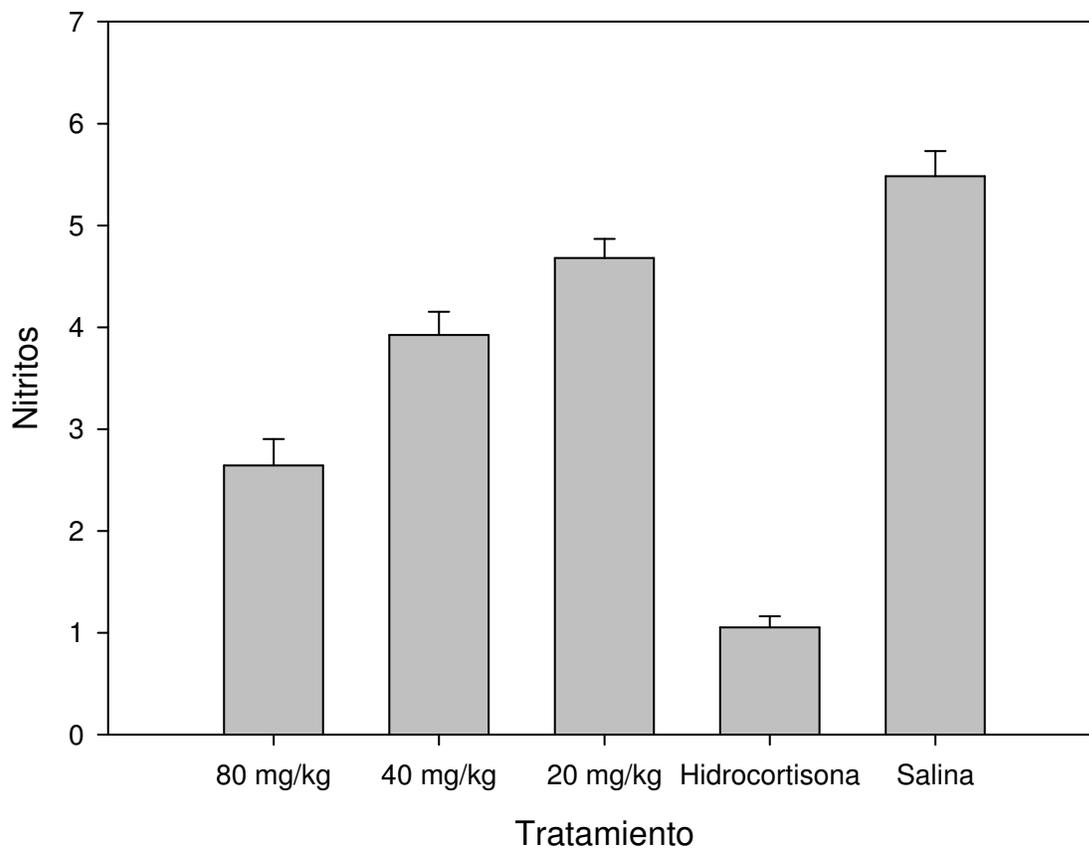


Grafica 2. Pesos de los Pellets húmedos. Los valores son la media \pm error estándar, $P=0.001$ Salina vs concentración de Hidrocortisona.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	12.783333	5.1506409	.128
40 mg/kg	10.310000	5.4020378	.340
20 mg/kg	-2.650000	5.1506409	.985
Hidrocortisona	29.600000	5.1506409	.000
Salina	99.250000	4.9194681	

Cuadro 2. Comparación de medias de los pesos de Pellets húmedos con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

Comparación de medias de la concentración de Nitritos con respecto a los tratamientos.

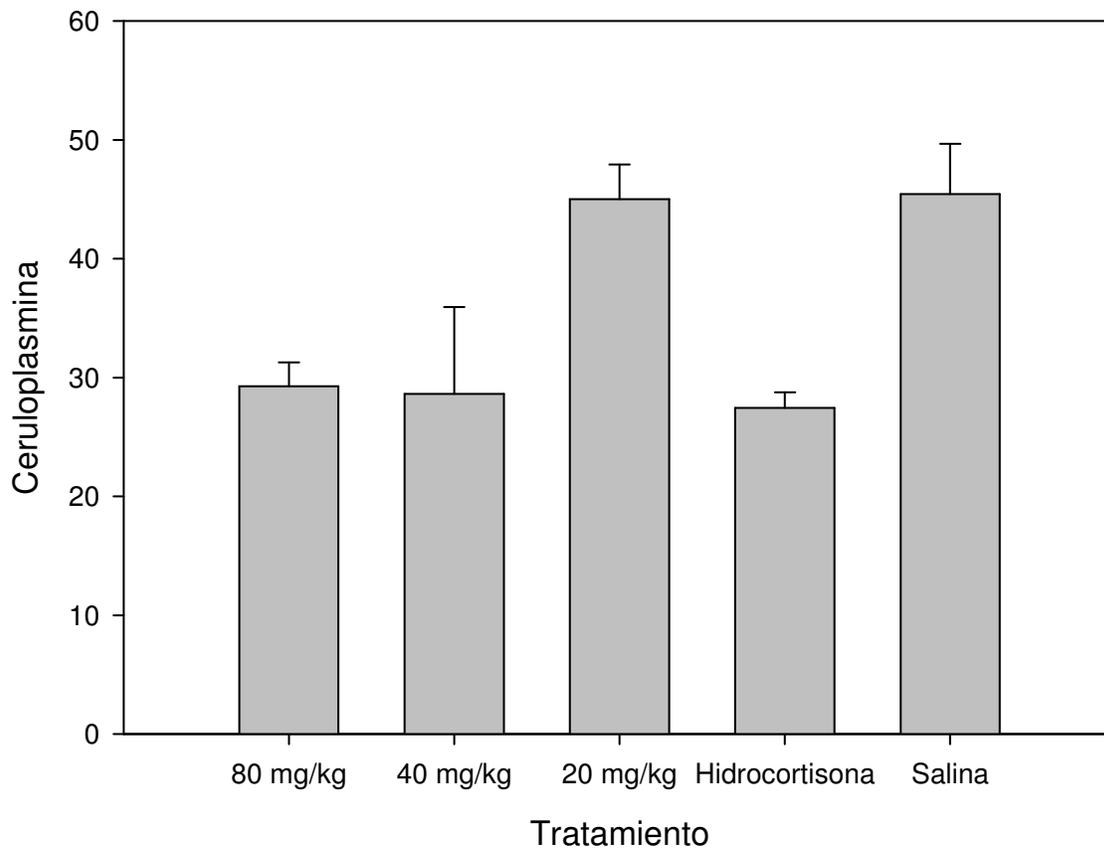


Grafica 3. Concentración de Nitritos. Los valores son la media \pm error estándar, $P=0.001$ Salina vs concentración de 80, 40 e Hidro cortisona.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	2.836350	.2915532	.000
40 mg/kg	1.558796	.3259664	.001
20 mg/kg	.801837	.2915532	.077
Hidro cortisona	4.428057	.2915532	.000
Salina	5.481217	.2478214	

Cuadro 3. Comparación de medias de Nitritos con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

Comparación de medias de la concentración de Ceruloplasmina con respecto a los tratamientos.



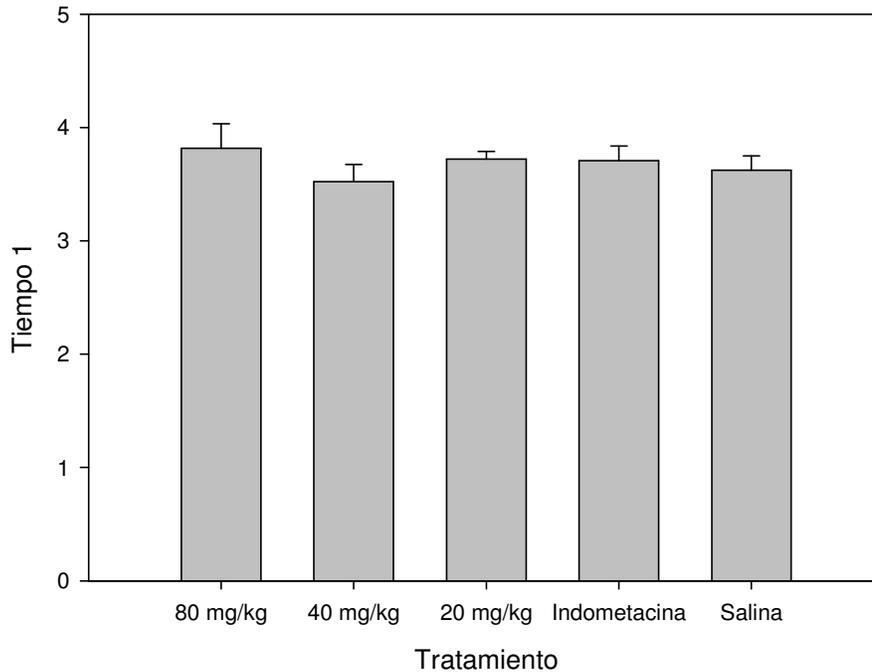
Grafica 4. Concentración de Ceruloplasmina. Los valores son la media \pm error estándar, $P=0.001$ Salina vs concentración de 80, 40 e Hidrocortisona.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	16.200000	5.3152728	.040
40 mg/kg	16.830000	5.5747051	.043
20 mg/kg	45.450000	5.3152728	1.000
Hidrocortisona	18.000000	5.3152728	.019
Salina	45.450000	4.2069585	

Cuadro 4. Comparación de medias de Ceruloplasmina con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

11.2 Resultados del modelo de inflamación agudo.

Comparación de medias del tiempo 1 de dosificación con respecto a los tratamientos.

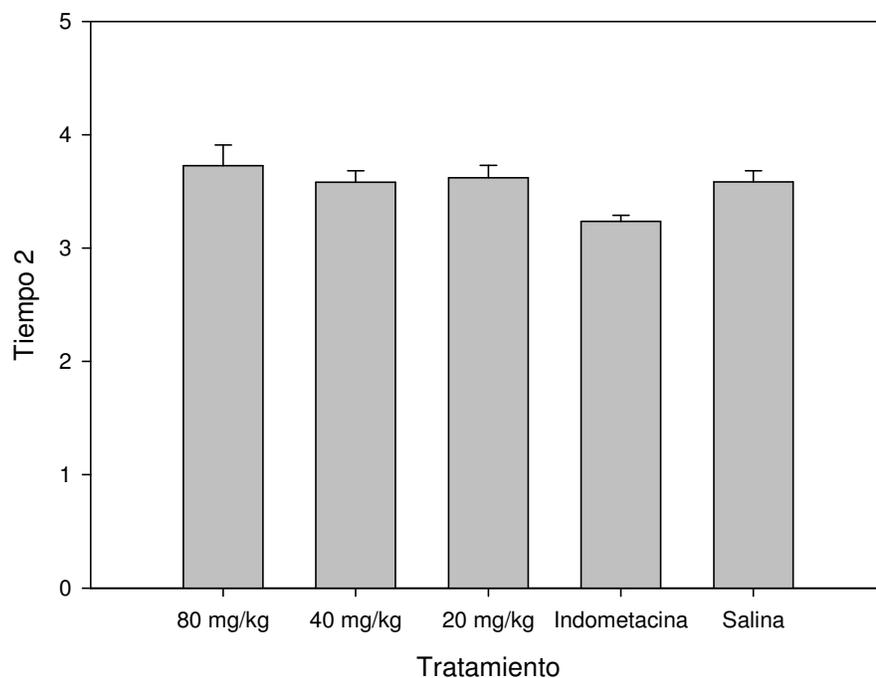


Grafica 5. Efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso *Physalis ixocarpa* e indometacina sobre el edema subplantar inducido por carragenina al 1%. Los valores representan la media \pm error estándar. $P=0.001$ de Salina.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	-.1933333	.1818473	.823
40 mg/kg	-.0183333	.1818473	1.000
20 mg/kg	-.0966667	.1818473	.983
Indometacina	-.1766667	.1818473	.865
Salina	3.625000	.1247865	

Cuadro 5. Comparación de medias del tiempo 1 con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

Comparación de medias del tiempo 2 de dosificación con respecto a los tratamientos.

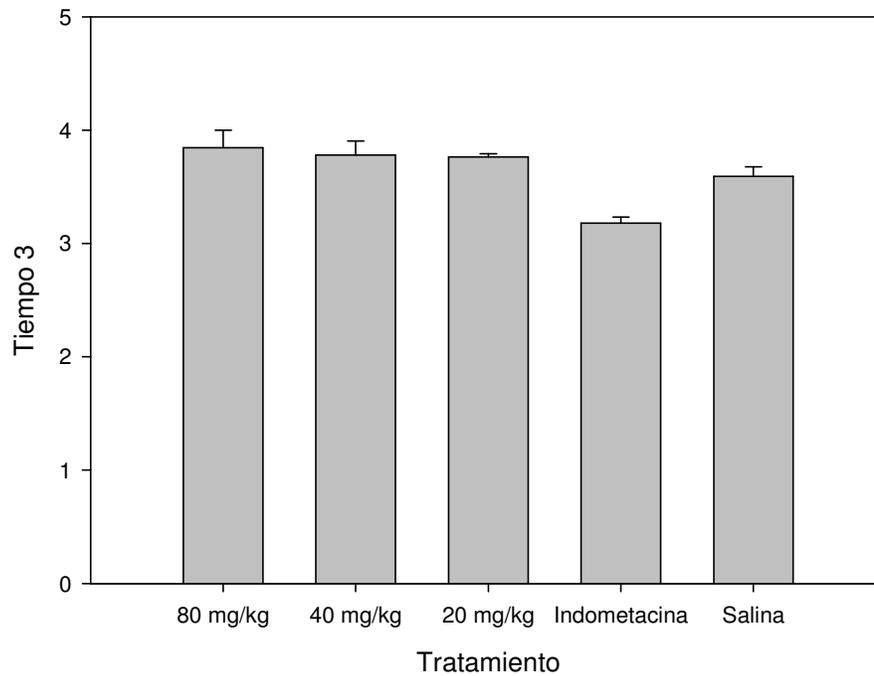


Grafica 6. Efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso *Physalis ixocarpa* e indometacina sobre el edema subplantar inducido por carragenina al 1%. Los valores representan la media \pm error estándar. $P=0.001$ de Salina.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	-.1433333	.1636398	.903
40 mg/kg	.0033333	.1636398	1.000
20 mg/kg	-.0366667	.1636398	.999
Indometacina	.3500000	.1636398	.236
Salina	3.585000	.0976985	

Cuadro 6. Comparación de medias del tiempo 2 con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

Comparación de medias del tiempo 3 de dosificación con respecto a los tratamientos.

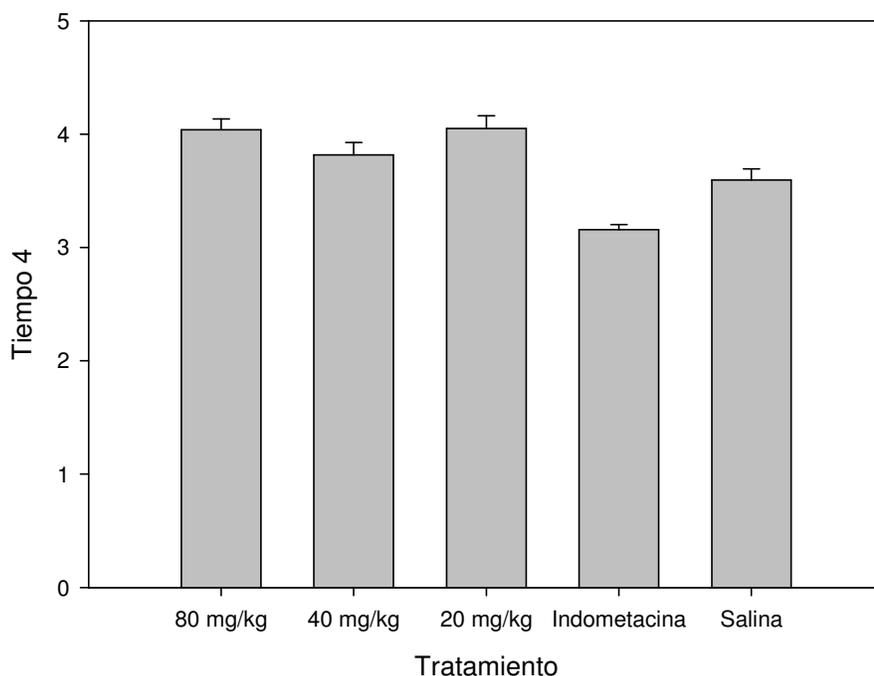


Grafica 7. Efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso *Physalis ixocarpa* e indometacina sobre el edema subplantar inducido por carragenina al 1%. Los valores representan la media \pm error estándar. $P=0.001$ de Salina vs Indometacina.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	-.2516667	.1403947	.400
40 mg/kg	-.1883333	.1403947	.669
20 mg/kg	-.1700000	.1403947	.745
Indometacina	.4133333	.1403947	.049
Salina	3.593333	.0820840	

Cuadro 7. Comparación de medias del tiempo 3 con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

Comparación de medias del tiempo 4 de dosificación con respecto a los tratamientos.

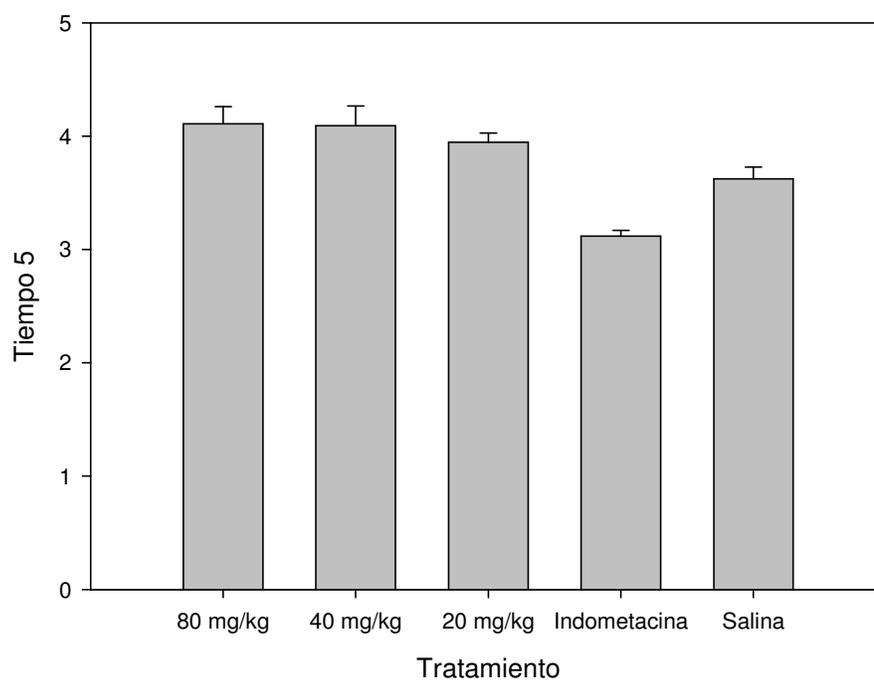


Grafica 8. Efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso *Physalis ixocarpa* e indometacina sobre el edema subplantar inducido por carragenina al 1%. Los valores representan la media \pm error estándar. $P=0.001$ de Salina vs concentración 80, 20 e Indometacina.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	-.4433333	.1359436	.024
40 mg/kg	-.2233333	.1359436	.485
20 mg/kg	-.4550000	.1359436	.020
Indometacina	.4383333	.1359436	.026
Salina	3.595000	.0990539	

Cuadro 8. Comparación de medias del tiempo 4 con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

Comparación de medias del tiempo 5 de dosificación con respecto a los tratamientos.



Grafica 9. Efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso *Physalis ixocarpa* e indometacina sobre el edema subplantar inducido por carragenina al 1%. Los valores representan la media \pm error estándar. $P=0.001$ de Salina vs Indometacina.

Grupo	Media	Error	Significancia
80 mg/kg	-.4833333	.1713457	.064
40 mg/kg	-.4666667	.1713457	.079
20 mg/kg	-.3200000	.1713457	.360
Indometacina	.5066667	.1713457	.048
Salina	3.625000	.1030129	

Cuadro 9. Comparación de medias del tiempo 5 con respecto a los diferentes tratamientos contra el testigo negativo (salina), analizados con la prueba de T de Student, con una confianza del 92%.

12.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Se realizó un análisis comparativo de medias estadísticas a través de la prueba de t de Student con una confianza del 92% para cada una de las determinaciones.

Inflamación crónica.

La administración diaria del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa*, a las dosis de 80 y 40 mg/kg inhibió significativamente la formación de tejido granulomatoso de forma comparable con la obtenida para la hidrocortisona (gráfica 1,2), observándose diferencias significativas entre los pesos de los pellets.

En la determinación de nitritos se logró observar una gran diferencia significativa entre la mayoría de los grupos de prueba, mostrando la amplia disminución de los radicales libres como consecuencia de la administración del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa*, siendo las concentraciones más efectivas 80 y 40 mg/kg (gráfica 3), comparadas con el testigo negativo y compitiendo contra la hidrocortisona.

En cuanto a la determinación de los niveles de ceruloplasmina se observó que la dosis más efectiva del extracto acuoso es la de 80 mg/kg (gráfica 4), ya que mostro un efecto antiinflamatorio parecido a la hidrocortisona; debido a que la ceruloplasmina es una proteína de fase aguda, dándonos así una disminución de dicha proteína en el suero obtenido durante la investigación.

Inflamación aguda.

Con respecto a los resultados obtenidos en el modelo de inflamación aguda no se encontraron diferencias significativas para su posible correlación entre la indometacina y la administración del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa* (gráfica 5-9), a diferencia del testigo positivo, el cual se ve contrastado contra el testigo negativo dando una confianza de que se llevo de manera pertinente dicho modelo experimental.

13.0 CONCLUSIONES.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que el extracto acuoso del tomate verde (*Physalis ixocarpa*) posee un efecto antiinflamatorio semejante a la hidrocortisona; dicho efecto podría estar relacionado por la presencia de agentes anti-oxidantes presentes en los frutos de dicha planta. Es sabido que plantas que presentan sustancias como flavonoides, polifenoles y α -tocoferoles con capacidad antioxidante, en muchas ocasiones a su vez presentan efecto antiinflamatorio; ya que es conocida la relación existente entre las especies reactivas del oxígeno y el nitrógeno (que provocan estrés oxidativo) con las enfermedades inflamatorias.

14.0 PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES.

- Difundir el uso del tomate en cataplasma como remedio primario contra la inflamación.
- Aislar y cuantificar las estructuras químicas presentes en el tomate que le confieren propiedades antiinflamatorias.

15.0 ANEXOS

15.1 Elaboración del extracto.



Figura 1: Extracción y purificación del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa*.



Figura 2: Secado al vacío del extracto acuoso de *Physalis ixocarpa*.

15.2 Grupos de experimentación.



Figura3: Agrupamiento de los grupos experimentales.

15.3 Administración de tratamientos por sonda gástrica.

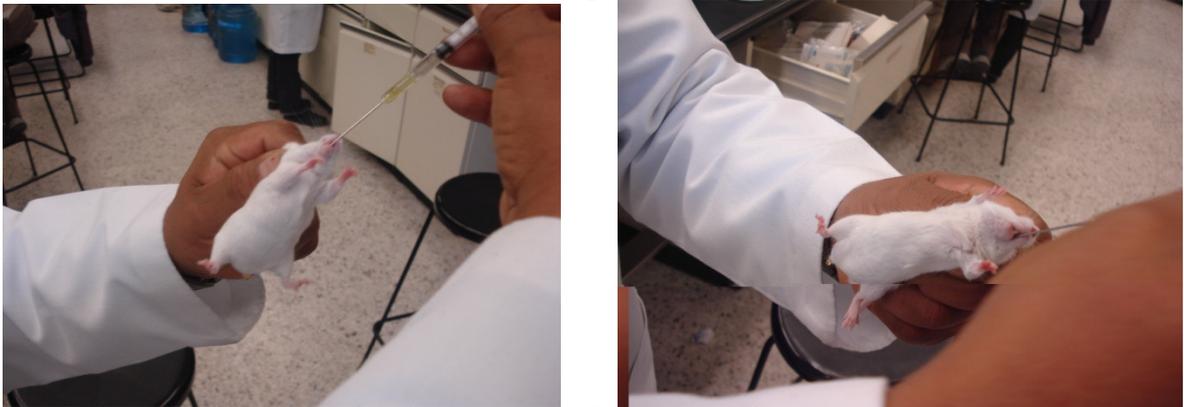


Figura 4-5: Técnica de administración de los tratamientos por sonda gástrica.

15.4 Preparación del grupo de experimentación para la evaluación del modelo crónico.

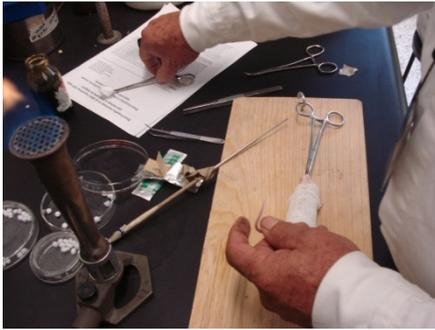


Figura 6: Preparación y manipulación de los animales de experimentación.



Figura 7: Preparación y manipulación de los animales de experimentación.



Figura 8: Preparación y manipulación de los animales de experimentación.



Figura 9: Preparación de los pellets de algodón.



Figura 9: Introducción del pellet de algodón.

15.5 Preparación del grupo de experimentación para la evaluación del modelo agudo.



Figura 10-11: Aplicación de Carragenina para la evaluación de ensayo agudo.



Figura12: Pletismometro.

16.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Aueta VA. “*Atlas de las plantas de la medicina*” Tomo II, Ed. Instituto Nacional Indigenista, (1994) pág. 1350.
2. Daniel PS. “*Inmunología básica y clínica*” Ed. El manual moderno México, D.F.- Santafé de Bogotá, 9rd edición (2002).
3. Abbas AB. ; Lichtman A.H. *Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system*, Saunders Elsevier 3rd edición (2000).
4. Goodman A, Goodman L, Gilman A. *Las Bases farmacológicas de la Terapéutica*. Ed. Científico/Técnico. (1980) pág. 141.
5. Kenneth L. Melmon, Howard F. Morrelli, S. George Carruthers. *Melmon and Morrelli's Clinical Pharmacology* (en inglés) Publicado por McGraw-Hill Professional, 2000.
6. [MedlinePlus] (enero de 2006). Indometacina. *Enciclopedia médica en español*.
7. Katzung, Bertram G. Adrenocorticosteroids & Adrenocortical Antagonists. *Basic & Clinical Pharmacology* (9 edición). McGraw-Hill 2007.
8. Yapur VM, Bustos FM, Gonzalez AS, Negri GA. *Ceruloplasmina: determinación de su actividad ferroxidasa*. Acta de bioquímica clínica Latinoamericana. 2007 3(41): 347-351.
9. Bautista Javier. *Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo*. Gac Med México. 2004;140:28-30.
10. Suarez MPJ. *Liberación de oxido nítrico inducido por el flujo sanguíneo*. Asch Inst. Cardiol. México. 2000,70:197-202.

11. Margni R. *Inmunología e Inmunoquímica fundamentos*. Quinta edición Buenos Aires: Panamericana; 1996;pp435.
12. Waizel BJ. *Las plantas medicinales y las ciencias. Una visión multidisciplinaria* Ed. Tres Guerras, México DF. (2006) pág. 181-193.
13. Roig, J.T. *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba* Tomo I, Ed. Científico Técnica, Segunda edición, Primera reimpresión, (1988) pág. 134.
14. Rosenkilde H. *Animal and clinical pharmacological techniques in drug evaluation* (J.H. Nodine & PE. Siegler, eds.), Year Book Medical Publishers, Chicago, (1994) pág. 492- 501.
15. Marroquin R, Flores M, Carreón R, García M, Mora J, Aguilar A, Hernández A. *The effect the aqueous extract of helietta parvifolia A*. Journal of Ethnopharmacology 124 (2009)639-641.
16. Bargaza P, Nuñez Y, Carrilloo C, Chavez I, Gonzalez ML, Gonzalez R, et al. *Efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de ocimum tenuiflorum l. en ratas*. Acta Farm. Bonaerense (2004) 23 (4): 492-7.
17. Rosales V, Gross M, Gross Rosales R, García R, León J. *Evaluación farmacológica de pluchea carolinensis jacq. (salvia de playa) en animales de experimentación*. Rev Cubana Plant Med (1999); 3 (2): 65-7.
18. León J. Rosales V. Rosales R, Pavón V. *Actividad antiinflamatoria y cicatrizante del ungüento rectal de aloe vera l. (sábila)*. Rev Cubana Plant Med (1999);3(3):106-9.

19. Furones J, Morón F, Pinedo Z. Ausencia de actividad. *Antiinflamatoria del extracto acuoso liofilizado de Petiveria alliacea (anamu) en ratas*. Rev Cubana Plant med (1996); 1(2):34-37, mayo-agosto.

20. *García L, Rojo D, García V, Hernández M. Plantas con propiedades antiinflamatorias*. Rev Cubana Invest Biomed (2002); 21(3):214-6.