

Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de
Gnaphalium semiamplexicaule D.C (Gordolobo) en un modelo de ratones CD1.

TESIS

Que para obtener el título de:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

Presenta:

VENUS CELESTE MEJÍA PÉREZ

Director de tesis: Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara

Asesora de tesis. Mtra. Yolanda Flores Cabrera

México DF

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de formar parte de la mejor Universidad de América Latina, por todo lo que representa para mi país y por ser motivo de admiración para todos los que tienen la fortuna de ser universitarios.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por ser mi segunda casa y darme la formación académica que será una valiosa herramienta para la vida profesional. Que orgullo decir ¡Soy Zaragozana!

Al Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara por su paciencia, tiempo y dedicación. Es una gran persona y ejemplo excepcional. Nunca cambie.

A la Mtra. Yolanda Flores Cabrera por su tiempo y sus enseñanzas dentro del aula de clases.

A la Dra. Elizabeth Sánchez González por su dedicación para hacer éste trabajo lo mejor posible.

Al Dr. Adelfo Reyes por su valioso tiempo y observaciones para mejorar mi tesis.

Al Dr. Rubén Marroquín Segura por ser de las personas más auténticas, sinceras y profesionales. Es usted un gran profesor.

Al Mtro. Maurilio Flores Pimentel por ser tan profesional y hacer del L1 un lugar agradable.

A todos los profesores del Laboratorio 1-planta alta de la UMIEZ por ser grandes ejemplos y amigos.

DEDICATORIAS

A Dios y la Virgen porque son mi padre y madre, me han regalado cada día de vida, me llenaron de bendiciones y me han permitido trazar metas y lograrlas.

A mis padres Mary Carmen y Eduardo son las personas más excepcionales, el retrato del amor de pareja, siempre juntos, siempre queriéndose y respetándose. Indudablemente son mi ejemplo a seguir, no pude ser bendecida más grande que con ustedes, me han enseñado que todo se logra con esfuerzo, trabajo y dedicación. Son fortaleza, comprensión, son mis amigos además me han sabido guiar y cada día construyen la familia más hermosa que pude tener. Los amo infinitamente y jamás terminaré de agradecerles todo lo que me han dado.

A mi hermano Jonathan, por ser mi compañero de juegos, travesuras y vida. Eres mi motor, el mejor consejero siempre, te admiro y siempre me sorprendes. Eres el regalo más grande que me pudo dar la vida, desde el momento que llegaste fuiste la luz de mis ojos y siempre voy a cuidarte y procurarte chiquillo. Siempre voy a estar para ti, te amo Jonhy bebé.

A mi Abuelo Gil, porque estas al pendiente de todos, gracias por tu sabiduría, tus consejos y arroparme siempre, eres el mejor abuelo que pude tener jamás. A mi Abuela Carmen porque aunque ya no puedas leer esto sé que estás conmigo siempre y siento tu abrazo y amor aún después de los años (... yo también te quiero). Los amo a los dos.

A mi Fers porque eres puerto y faro, porque no me sueltas de la mano, crees en mí, me alientas a seguir adelante, no desesperarme, no rendirme y me tranquilizas. Gracias porque inyectas confianza en mí misma y me haces creer que puedo lograr lo que sea, por desvelarte a la distancia hasta que terminara mi proyecto, por tantas aventuras sin fin. Porque me enseñas a Vivir la Vida. Te amo bolita, vamos con todo y por todo.

A Alhelí, hermana que escogí gracias por la amistad de años y por estar en los momentos más importantes de mi vida inventando carcajadas siempre, a Silvia porque rezas por mí, eres tan auténtica, sincera y estás 24/7. A Fanny porque somos amigas desde niñas y hasta la fecha seguimos y seguiremos, eres un ejemplo de inteligencia y constancia Ingeniera. A Marthita e Ilse porque tienen las palabras justas siempre, gracias por tantas y tantas risas, por las pláticas y por ser tan geniales mujeres, fue un honor compartir la carrera con ustedes. Las quiero tanto.

A Rodas porque eres mi hermano y sé que siempre voy a contar contigo al igual que tu conmigo. A mis grandes amigos Miguel, Arturo, Paco, Carlos, Gabriel, Pedro, los quiero y los admiro qué afortunada soy de tenerlos en mi vida. Gracias por hacer cada día en la facultad algo para llevar en la mente y el corazón.

“Soy de las que piensan que la ciencia tiene una gran belleza.

Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico:

Es también un niño colocado ante los fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas.”

Marie Curie

Amor y verdad son las dos cosas de Dios.

La verdad es el fin y el amor es el camino

Mahatma Gandhi

2.9.1 TGO y TGP	26
2.10 Bazo	27
2.10.1 Esplenomegalia	28
2.11 Medicina tradicional mexicana	29
2.11.1 Planta medicinal	32
2.12 Gordolobo (<i>Gnaphalium semiamplexicaule</i> D.C.)	33
3. Planteamiento del problema	35
4. Hipótesis	36
5. Objetivo general	36
5.1 Objetivos particulares	36
6. Material y métodos	37
6.1 Diseño (Tipo de estudio)	37
6.2 Universo (Población de estudio)	37
6.3 Variables	37
6.3.1 Independientes	37
6.3.2 Dependientes	37
6.4 Técnicas	38
6.4.1 Obtención del extracto etanólico de <i>Gnaphalium semiamplexicaule</i>	38
6.4.2 Ensayo de inflamación aguda	40
6.4.3 Ensayo de inflamación sub-aguda	41
6.4.4 Determinación de ceruloplasmina	44
6.4.5 Determinación de nitritos	46
6.4.5.1 Plateado de cadmio	46
6.4.5.2 Ensayo	48
6.4.6 Determinación de marcadores enzimáticos	49
6.5 Análisis estadístico	49

7. Resultados	50
8. Discusión	54
9. Conclusiones	57
10. Perspectivas	57
11. Referencias	58

1. INTRODUCCIÓN

La respuesta inflamatoria es un mecanismo de defensa frente a una lesión de un tejido o bien a una infección causada por un agente extraño tiene características bien definidas y pueden distinguirse 2 tipos (aguda y crónica) diferenciadas por la intensidad de los síntomas así como su duración y desenlace.

En ambos casos, los síntomas son molestos y disminuyen la calidad de vida de quien los padece por lo tanto hay medicamentos especializados en atenuarlos o inhibirlos. En el caso de una inflamación aguda, es común el uso de antiinflamatorios no esteroideos y en la inflamación crónica regularmente se prescriben medicamentos derivados de esteroides, sin embargo, en nuestro país es también muy frecuente el uso de remedios herbolarios tradicionales para aminorar los síntomas.

Los conocimientos de la preparación y el uso de infusiones, extractos y pomadas preparadas en casa con plantas medicinales constituyen un elemento terapéutico, en la mayoría de los casos, sin una base científica que compruebe su efectividad o inocuidad en el paciente. Uno de los extractos ampliamente utilizados por la población para disminuir los síntomas de la inflamación es el Gordolobo, sin embargo, no hay estudios farmacológicos que confirmen la eficacia o seguridad en el uso de esta planta.

En el trabajo experimental que se llevó a cabo se evaluó el efecto antiinflamatorio de un extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo) en un modelo de ratones de esta forma comprobar si tiene efecto sobre ésta respuesta inmunitaria y si causa efectos secundarios desfavorables.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 INFLAMACIÓN

Es la respuesta del tejido vascularizado a un estímulo injuriente físico, químico o biológico y un mecanismo de defensa primordial del organismo constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares; primero dolor, luego el sitio de la herida aumenta de tamaño, se calienta y enrojece, se hincha y si se trata de una quemadura se forma una ampolla. Posteriormente retornara a lo normal, los tejidos serán similares a como se presentaban antes de la acción del daño. Es una respuesta inespecífica y su principal finalidad es aislar y destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano dañado. Se denomina con el sufijo –itis.¹⁻³

Los aspectos básicos de la inflamación son:

- Focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor.
- Es inmediata, de urgencia y preponderadamente inespecífica, pero puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica.
- El foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes.¹

En general un proceso inflamatorio presenta 5 signos llamados cardinales los primeros 4 fueron descritos por Celso en el siglo I d.C. y el quinto es llamado el signo de Virchow, estos son:

1. Tumefacción. Incremento del líquido intersticial y formación de edema.

2. Rubor. Enrojecimiento debido principalmente a los fenómenos de aumento de presión por vasodilatación.
3. Calor. Aumento de la temperatura de la zona de inflamación debida a la vasodilatación y al incremento del consumo local de oxígeno.
4. Dolor. Síntoma de carácter subjetivo, mientras que el resto son signos de carácter objetivo. Comprende el primer signo de la tétrada de Celsius.
5. Pérdida o disminución de la función.³

El proceso inflamatorio puede dividirse en 5 etapas:

1. Liberación de mediadores. Son moléculas la mayor parte de ellas, de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la actuación de determinados estímulos.
2. Efecto de mediadores. Una vez liberadas, las moléculas producen alteraciones vasculares y efectos químicos tóxicos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.
3. Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Proceden en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes al foco.
4. Regulación del proceso inflamatorio. Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendentes a finalizar o equilibrar el proceso.

5. Reparación. Fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria. ¹

2.2 INFLAMACIÓN AGUDA

Es una respuesta rápida a un agente lesivo, microorganismos y otras sustancias extrañas que esta diseñada para liberar leucocitos y proteínas plasmáticas en los sitios de lesión, en el foco lesivo los leucocitos eliminan a los invasores y comienzan el proceso de digerir y deshacerse de los tejidos necróticos. Se ve estimulada por infecciones (bacterias, virus, hongos o parásitos), traumatismos (agentes físicos, químicos o radiación), necrosis tisular de cualquier causa, cuerpos extraños y reacciones inmunitarias (hipersensibilidad).^{1,4}

Tiene dos componentes principales:

- i) **Cambios vasculares.** Alteraciones en el calibre vascular que dan lugar a un aumento de flujo sanguíneo (vasodilatación) y a cambios estructurales que permiten a las proteínas plasmáticas abandonar la circulación (aumento de la permeabilidad).

1) Cambio en el calibre y flujo. Comienza con una vasoconstricción transitoria de pocos segundos, se produce la vasodilatación arteriolar por lo que hay un aumento localizado del flujo de sangre que es la causa del enrojecimiento (eritema) y aumento del calor. Conforme aumenta la permeabilidad el líquido rico en proteínas pasa a los tejidos extravasculares y aumenta la concentración de hematíes y la viscosidad de la sangre por lo que disminuye la velocidad de la circulación este proceso es denominado

estasis. Simultáneamente los leucocitos (neutrófilos) se comienzan a acumular en la superficie del endotelio vascular proceso denominado marginación. Esto es la primera etapa en el viaje de los leucocitos a través de la pared vascular hacia el interior del tejido intersticial. Está mediada por histamina, bradicina, leucotrienos y es la causante del eritema y de la estasis.

2) *Aumento en la permeabilidad vascular.* La vasodilatación y el aumento del flujo llevan un aumento en la presión hidrostática intravascular lo que da lugar al paso de líquido capilar a los tejidos. El líquido denominado trasudado es un ultrafiltrado de plasma con pocas proteínas. El aumento de la permeabilidad permite el paso del exudado que es un líquido rico en proteínas e incluso células esto reduce la presión osmótica intravascular y la aumenta en el líquido intersticial. El resultado final es la salida de agua y iones a los tejidos extravasculares denominado edema.

En las reacciones inflamatorias especialmente las causadas por microorganismos los vasos linfáticos participan también en la respuesta, esta aumenta y ayuda a evacuar el líquido del edema del espacio extravascular los vasos linfáticos pueden transportar al agente causal e inflamarse de forma secundaria (linfangitis). Está mediada por histamina, cininas y otros mediadores que producen hiatos entre las células endoteliales.⁴

- ii) **Acontecimientos celulares:** En este momento del proceso sucede el reclutamiento y la activación de los leucocitos que presentan una secuencia.

- 1) Marginación. Proceso de acumulación leucocitaria en la periferia de los vasos. Hay un rodamiento que es el movimiento sobre la superficie endotelial transitoriamente y adherencia a lo largo del camino. Está mediado por selectinas.
- 2) Adhesión y transmigración. Los leucocitos se adhieren a la superficie endotelial mediada por integrinas. Son citocinas quimioatrayentes secretadas por muchas células en los sitios de inflamación. Después de ser detenidos migran a través de la pared vascular a este movimiento se le llama diapédesis y esta ocasionada por las quimiocinas producidas en los tejidos extravasculares. Después de pasar a través del endotelio, los leucocitos cruzan las membranas basales vasculares degradándolas focalmente con colagenasas segregadas.
- 3) Quimiotaxis. Es la migración de leucocitos una vez que salieron del vaso hacia el sitio de infección o lesión a lo largo de un gradiente químico. Los quimiotácticos pueden ser endo o exógenos por ejemplo productos bacterianos, citocinas, componentes del sistema del complemento, productos de la vía metabólica de la lipoxigenasa del ácido araquidónico (leucotrieno B4) producidos en respuesta a infecciones y daño tisular. Durante las primeras 6 a 24 horas migran neutrófilos y se sustituyen por macrófagos de las 24 a 48 horas.
- 4) Activación. Los leucocitos tienen receptores que notan la presencia de agentes extraños. El compromiso de estos receptores por los productos microbianos o por diversos mediadores de la inflamación son parte de sus funciones defensivas normales que da lugar al aumento de la fagocitosis, producción de enzimas lisosómicas y especies reactivas del oxígeno y nitrógeno además de la producción de mediadores que amplifican la reacción inflamatoria. Los leucocitos pueden

eliminar los microorganismos y células muertas por fagocitosis seguida de la destrucción en los lisosomas causada por radicales libres. Sin embargo estos mecanismos son también capaces de dañar tejidos sanos.⁴

2.2.1 Desenlaces de la inflamación aguda

Al final del proceso inflamatorio agudo puede tomar uno de varios desenlaces.

- Resolución. Restauración a una normalidad histológica y funcional, neutralización, descomposición o degradación enzimática de los mediadores químicos, normalización de la permeabilidad y cese de la migración leucocitaria con la posterior muerte por apoptosis de los neutrófilos extravasados. Los leucocitos producen mediadores que inhiben la inflamación.
- Progresión a inflamación crónica. Si no se elimina el agente causal, puede seguirse del restablecimiento de la estructura y funciones normales o puede llevar a la cicatrización.
- Cicatrización o fibrosis. Consecuencia de una destrucción tisular o de la inflamación en tejidos que no se regeneran.

2.2.2 Mediadores involucrados en el proceso inflamatorio agudo.

Para que la maquinaria del proceso funcione es necesaria la intervención de mediadores que provienen de diferentes fuentes pero que tienen fines muy parecidos y encaminados a la resolución de la inflamación y recuperar el estado de salud.

2.2.2.1 Mediadores químicos. Este grupo de mediadores puede subdividirse a su vez en 4 pequeños grupos.

- Preformados. Incluye a la histamina liberada de mastocitos, basófilos y plaquetas, además de la serotonina liberada únicamente de plaquetas.
- De nueva síntesis. Se refiere a las prostaglandinas, leucotrienos, factor activador de plaquetas, especies reactivas del oxígeno, óxido nítrico, citocinas y neuropéptidos; provenientes de leucocitos, mastocitos, macrófagos, linfocitos EC y fibras nerviosas.
- De activación del complemento. Contiene las anafilotoxinas y el complejo de ataque a la membrana.
- De activación del factor XII. Incluye el sistema de las cininas y de la fibrinólisis.

2.2.2.2 Mediadores derivados de células. Los macrófagos titulares, células cebadas y células endoteliales en el sitio de inflamación, así como los leucocitos que son reclutados para dirigirse a dicho sitio desde la sangre son todas esas células capaces de producir diferentes mediadores de la inflamación. Se subdividen en 6 grupos:

- Aminas vasoactivas. Histamina y serotonina intervienen en la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad.
- Metabolitos del ácido araquidónico. Prostaglandinas y leucotrienos existen varias formas y se hallan implicadas en las reacciones vasculares quimiotaxis leucocitaria y otras reacciones de la inflamación; antagonizadas por lipoxinas. El ácido araquidónico puede metabolizarse por dos vías la primera es la vía de la ciclooxigenasa en la cual se producen tromboxano y

prostaglandinas las cuales favorecen la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular. La segunda vía es de la 5-lipooxigenasa en la cual se producen ácido hidroxieicosatetraenoico que actúa en la quimotaxis, produce diferentes leucotrienos y 12-lipooxigenasa que se metaboliza a lipoxina A4 y B4 que inhiben la adhesión y quimiotaxis de neutrófilos.

- Citocinas. Son proteínas producidas por muchos tipos celulares; suelen tener una acción de corto alcance median en múltiples efectos, principalmente en el reclutamiento y migración leucocitaria, los principales en la inflamación aguda son TNF α -1 y quimiocinas.
- Especies reactivas del oxígeno. Tienen su función en la destrucción microbiana.
- Enzimas lisosómicas. Participan en la destrucción microbiana en una lesión tisular.
- Factor de necrosis tumoral e interleucina. Producido por monófagos activados, así como por células cebadas endoteliales. Favorece el reclutamiento leucocitario y producción de otras citocinas y causa agregación y activación de neutrófilos.

2.2.2.3 Mediadores derivados de las proteínas plasmáticas. Las proteínas circulantes de 3 sistemas interrelacionados, los sistemas del complemento, de las cininas y de la coagulación, se hallan implicadas en varios aspectos de la reacción inflamatoria.

- i) Proteínas de complemento. Formado por componentes numerados C1 a C9 se hallan en el plasma en formas inactivas que se activan por proteólisis lo cual lleva a la generación de múltiples productos de degradación que son responsables de la quimiotaxis de los leucocitos, opsonización, fagocitosis de microbios y otras partículas y destrucción celular.

- ii) Proteínas de coagulación. El factor XII de Hageman activado desencadena el sistema de las cininas, el de coagulación induciendo la activación de la trombina, fibrinopeptidos y factor X, todos con propiedades inflamatorias, el sistema fibrinolítico produciendo plasmina e inactivando trombina y el sistema del complemento produciendo las anafilotóxicas C3 a C5. El factor XII también es conocido como el de la cascada de la coagulación intrínseca y es una proteína sintetizada por el hígado.

- iii) Cininas. Producidas por escisión proteolítica de precursores median en la reacción vascular y el dolor.

2.3 INFLAMACIÓN CRÓNICA

Es una inflamación de duración prolongada (semanas, meses o años). En donde la inflamación activa, lesión tisular y la cicatrización se suceden simultáneamente. Suele ser más insidiosa que la aguda y queda tipificada por el flujo de leucocitos y macrófagos con proliferación vascular y fibrosis. Se caracteriza por infiltración con células mononucleares, incluidos macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, destrucción tisular

inducida por los productos de las células inflamatorias y reparación que implica la proliferación de nuevos vasos y fibrosis. La inflamación aguda surge en diferentes situaciones.^{1,4}

- Infecciones persistentes. La mayoría son víricas que desencadenan reacciones inflamatorias crónicas dominadas por linfocitos y macrófagos.
- Enfermedades inflamatorias de mediación inmunitaria. Causada por una activación excesiva e inapropiada del sistema inmunitario. Los autoantígenos provocan una reacción inmunitaria que se autoperpetua y da lugar a daño tisular e inflamación crónica.
- Exposición prolongada a agentes potencialmente tóxicos. Causada por materiales exógenos como el sílice inhalado o agentes endógenos como los componentes lipídicos plasmáticos elevados que contribuyen a la arterosclerosis.

2.3.1 Células y mediadores en la inflamación crónica

La inflamación crónica está caracterizada por inflamación coexistente, lesión tisular, intento de cicatrización y respuesta inmunitaria. El infiltrado celular consta de macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y con frecuencia la fibrosis es prominente. Está mediada por citocinas producidas por macrófagos y linfocitos T.

2.3.1.1 Macrófagos. Células dominantes de la inflamación crónica, son células tisulares derivadas de los monocitos de la sangre circulante después de su migración a partir del torrente circulatorio, se hallan en tejido conjuntivo y el hígado, bazo y ganglios linfáticos, SNC y pulmones. En conjunto comprenden el sistema fagocítico mononuclear. Tienen semivida mayor a la de los monocitos circulantes con una capacidad mayor de

fagocitosis. Después de la activación secretan una amplia variedad de productos biológicos activos que si no son regulados pueden dar lugar a lesión tisular y fibrosis que son características de la inflamación crónica como proteasas ácidas y neutras, óxido nitroso, metabolitos del ácido araquidónico y citocinas.

2.3.1.2. Linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y células cebadas. Los linfocitos y macrófagos interactúan de modo bidireccional y representan una función importante en la inflamación crónica, los macrófagos muestran antígenos a las células T, expresan moléculas de membrana que estimulan la respuesta de las células T que produce citocinas como el IFN- α que es un activador de macrófagos. El resultado es un ciclo de reacciones celulares que alimentan y mantienen la inflamación crónica.

Los eosinófilos se encuentran alrededor de infecciones parasitarias. Su reclutamiento esta accionado por moléculas de adhesión y por quimiocinas, los gránulos eosinófilos contienen una proteína básica catiónica tóxica para parásitos pero causa también necrosis en las células epiteliales. Las células cebadas son células centinela ampliamente distribuidas en los tejidos conjuntivos por todo el organismo y pueden participar en las respuestas inflamatorias tanto agudas como crónicas. En individuos que presentan alguna alergia las células cebadas se encuentran armadas con anticuerpos IgE. Liberan histamina y metabolitos de AA que desencadenan los cambios vasculares tempranos de la inflamación aguda. ⁴

2.3.2 Inflamación Granulomatosa

Patrón distintivo de la inflamación crónica caracterizado por agregados de macrófagos activados que adoptan un aspecto epiteloide. Los granulomas se encuentran en ciertos estados patológicos específicos, el reconocimiento del patrón granulomatoso es

importante por el número limitado de afecciones. Se pueden desarrollar granulomas en respuesta a cuerpos extraños relativamente inertes, formándose denominados granulomas de cuerpo extraño, la formación de un granuloma “separa por medio de una pared” de modo efectivo al agente causal y es por tanto un mecanismo de defensa útil. La formación del granuloma no siempre lleva a la erradicación del agente causal, que con frecuencia es resistente a la destrucción o degradación. En las preparaciones habituales de hematoxilina y eosina, las células epiteloides de los granulomas tienen un citoplasma granular de color rosa con límites celulares mal delimitados. ⁴

2.3.3 Enfermedades inflamatorias crónicas

Estudios sugieren que regiones de células endoteliales aumentadas en tamaño que semejan endotelios venulares altos (EVA) aparecen a lo largo de los vasos en los tejidos extralinfoides que son sitios de infección crónica, estas regiones similares a EVA, que al parecer son sitios de extravasación de linfocitos hacia el tejido inflamado, expresan diversas mucinas que a menudo se manifiestan sobre los EVA normales. Se observan regiones del tipo EVA en diversas enfermedades inflamatorias crónicas del ser humano, entre otras artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto y diabetes mellitus en las cuales el desarrollo de vasos sanguíneos con EVA podría facilitar la entrada de grandes cantidades de leucocitos en el sitio, lo que contribuiría a la inflamación crónica. ⁵

2.4 EFECTOS SISTÉMICOS DE LA INFLAMACIÓN

Fiebre. Elevación de la temperatura corporal de 1 a 4 °C producida en respuesta a los pirógenos que actúan estimulando la síntesis de prostaglandinas en las células vasculares y perivasculares del hipotálamo.

Concentraciones plasmáticas elevadas de las proteínas de fase aguda. Sintetizadas en el hígado PCR, fibrinógeno y la proteína amiloide sérica que actúan como opsoninas y fijador de complemento promoviendo así la eliminación de los microorganismos.

La leucocitosis. El recuento leucocitario aumenta hasta 15000 o 20000 sin embargo en ocasiones extraordinarias puede llegar a 40000 o incluso 100000 denominadas reacciones leucemoides.

Aumento de la frecuencia cardiaca y presión arterial, disminución de la sudoración, escalofríos, enfriamiento, anorexia, somnolencia.

Aumento de la síntesis de hormonas como ACTH y cortisol.

La proteína C reactiva es un prototipo de proteína de fase aguda cuya concentración sérica se incrementa 1000 veces durante la reacción de fase aguda, compuesta por 5 polipéptidos idénticos que se mantienen unidos entre si, por medio de interacciones no covalentes. Se fija a gran variedad de microorganismos y activa el complemento, lo que da por resultado el depósito de la opsonina sobre la superficie de los microorganismos.

En infecciones graves, shock séptico, disminución de la presión arterial, coagulación intravascular diseminada, anomalías metabólicas inducidas por niveles elevados de TNF.^{4,5}

2.5 INDICADORES DE INFLAMACIÓN

En la respuesta inflamatoria se producen cambios en una serie de proteínas que pueden contribuir a la modificación del transporte inverso de colesterol y a la reducción de la actividad antioxidante de las HDL, ya que estas protegen a las LDL de la oxidación La ceruloplasmina es una proteína asociada a las HDL es un reactante de fase aguda, con

frecuencia aumenta frente a una inflamación, infección grave, daño tisular y en algunos tipos de cáncer. Su papel en los cambios lipídicos de la inflamación no está claro y es contradictorio ya que mientras que en unos estudios se le atribuye actividad antioxidante, en otros podría favorecer la oxidación de las HDL.

2.5.1 Ceruloplasmina. Es una α -2glucoproteína sérica sintetizada en el hígado como una apoproteína, si bien, puede ser sintetizada por células integrantes de otros tejidos como los monocitos, astrocitos y células Sertoli. El gen de la Cp está localizado en el cromosoma 3. Su función principal es el transporte del 90% de cobre, y además el metabolismo del hierro (ferroxidasa) también se involucra en funciones antioxidantes.²²⁻²⁵

Se determina la ceruloplasmina para diagnosticar alteraciones.

Cuando se encuentran por debajo de lo normal puede deberse a

- Enfermedad hepática crónica
- Absorción intestinal deficiente
- Desnutrición
- Síndrome de Menkes
- Síndrome nefrótico
- Enfermedad de almacenamiento de cobre de Wilson

Los niveles por arriba de lo normal pueden deberse a

- Infecciones agudas y crónicas
- Linfoma

- Embarazo
- Artritis reumatoide
- Uso de píldoras anticonceptivas.²¹

2.5.1.1 Inmunodifusión Radial

La reacción antígeno-anticuerpo es una unión molecular entre el epítipo (Ag) y la región hipervariable del Ac, mediante interacciones no covalentes o secundarias. Éstas uniones son débiles tales como puentes de hidrógeno, fuerzas iónicas y fuerzas de Van der Waals. Estas fuerzas sólo se convierten en agentes de unión efectivos cuando ocurren a distancias muy cercanas. Las interacciones hidrofóbicas intervienen también y constituyen el 50% de la fuerza total, de tal manera que debe ocurrir una combinación de moléculas complementarias entre el sitio de unión del anticuerpo y el determinante antígeno o epítipo. Mientras más se complementen las configuraciones moleculares más uniones secundarias se forman entre el Ag y el Ac.

En la unión ocurren dos reacciones. La primaria es la formación del complejo Ag-Ac y la secundaria es la evidencia de esos complejos mediante la observación de un fenómeno, el cual depende de la naturaleza del antígeno, las propiedades de los Ac y la presencia de otros factores en el medio de Rx.

La aplicación de éstas reacciones *in vitro* son las pruebas serológicas, pueden realizarse en suero, plasma, orina o líquido cefalorraquídeo. Una prueba serológica para un antígeno específico idealmente es realizada usando un reactivo de anticuerpo monoespecífico (que contenga reactivo con una sola clase de epítipo).

La inmunodifusión radial es una técnica que puede determinar cuantitativamente la concentración de un antígeno. Es usada clínicamente para detectar niveles de proteínas plasmáticas. El fundamento es un anticuerpo incorporado en agarosa fundida, la cual es vertida dentro de una caja Petri o Falcon y se deja solidificar. Se cortan pequeños pozos dentro de la agarosa y son llenados con concentraciones conocidas de un antígeno correspondientes al anticuerpo. Las muestras desconocidas se colocan en los pocillos de este modo los antígenos en solución difundirán hacia afuera del pozo en un patrón circular que rodea el pozo. El anticuerpo está presente en exceso y la difusión del antígeno continuará hasta que se forme un precipitado antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) en toda la zona circundante al pozo dentro de la línea de precipitina. En esta línea es donde está presente el mayor número de complejos ya que en este punto el Ag y el Ac están en proporciones iguales. Esta es conocida como la zona de equivalencia. Generalmente toma de 24 a 48 horas para que ocurra la difusión óptima y la precipitación se haga evidente.^{32, 33}

2.6 AGENTES ANTIINFLAMATORIOS

En ocasiones la reacción inflamatoria resulta dañina en el caso de alergias, enfermedades autoinmunes, infecciones microbianas, trasplantes y quemaduras pueden iniciar una reacción crónica. Por lo tanto se dispone de diversas modalidades terapéuticas para reducir las reacciones inflamatorias prolongadas y por tanto las complicaciones que las acompañan.⁵

2.6.1 Glucocorticoides. Son potentes supresores de la inflamación. Pueden evitar o suprimir la inflamación en respuesta a múltiples fenómenos incitantes, entre ellos estímulos radiantes, mecanismos químicos infecciosos e inmunitarios.

Las propiedades antiinflamatorias los convierten en agentes terapéuticos invaluable aunque no ataquen la causa fundamental de la enfermedad. Influye sobre la compleja serie de reacciones inducidas por traumatismos tisulares, irritantes químicos, proteínas extrañas e infecciones. El efecto más importante es la inhibición de pasos cruciales de la respuesta tisular. Tienen influencia sobre el tráfico de leucocitos circulantes y las células inmunes accesorias, suprimen la activación inmunológica de estas células, inhiben la producción de citocinas y otros mediadores de la inflamación afectan preferiblemente ciertos grupos de linfocitos T, suprimen la función de linfocitos Th y estimulan la apoptosis de eosinófilos y ciertos grupos de células T. Estos también inhiben la expresión de moléculas de adhesión y de sus correspondientes receptores y potencian la reacción de fase aguda.

Los glucocorticoides disminuyen o previenen la respuesta de los tejidos a los procesos inflamatorios, por lo que reducen el desarrollo de los síntomas de la inflamación sin afectar la causa subyacente. Estos fármacos inhiben la acumulación de células inflamatorias incluyendo macrófagos y leucocitos. También inhiben la fagocitosis, la liberación de enzima lisomal y la síntesis y/o liberación de los mediadores químicos de la inflamación.^{6,8}

Mecanismos a través de los cuales el cortisol suprime la respuesta inflamatoria.

- El cortisol induce una fosfoproteína denominada lipocortina que inhibe la enzima fosfolipasa. Esta enzima genera ácido araquidónico dado que este último sirve como precursor para la síntesis de prostaglandinas y compuestos relacionados, disminuye la producción de estos mediadores de la inflamación.

- Disminuye la producción de interleucina al reprimir la expresión del gen de esta linfocina. De este modo puede bloquear toda la cascada de la inmunidad por células, así como la generación de fiebre.
- Estabiliza los lisosomas y por tanto reduce la liberación de enzimas capaces de degradar cuerpos extraños.
- Bloquea el reclutamiento de neutrófilos al inhibir su capacidad para ligar péptidos quimiotácticos, la hormona altera además la capacidad fagocítica y antibacteriana de los neutrófilos.
- Disminuye la proliferación de los fibroblastos y su capacidad para sintetizar y depositar fibrillas tisulares, evitando así la encapsulación de los invasores.⁶

2.6.2 Antiinflamatorios no esteroideos.

Son un grupo de medicamentos que tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) pueden clasificarse dependiendo de la estructura química, dentro del grupo de los indoles se encuentra la indometacina que es uno de los AINES más potentes, pero también más tóxicos. Es útil en ataques agudos de gota, espondilitis anquilosante, enfermedad de Barther, cierre del ducto permeable, prolongación del parto. Esta se une e inhibe preferente a COX1, pudiendo producir efectos adversos renales y gastrointestinales con mayor frecuencia. Es un inhibidor no selectivo de COX inhibe tanto COX1 como COX2, inhiben la agregación plaquetaria y producen efectos GI y renales.^{7,12}

2.6.2.1 Mecanismo de acción de los AINES

La primera enzima en la vía sintética de prostaglandina es la ciclooxigenasa que es la encargada de transformar al ácido araquidónico en productos intermediarios inestables, PGG₂ y PGH₂, Hay dos tipos de ciclooxigenasa la COX1 es una isoforma constitutiva que aparece en casi todas las células y tejidos normales, en tanto que COX2 es inducida en casos de inflamación por acción de las citocinas y mediadores de la inflamación sin embargo COX2 es expresada en forma configurativa en algunas zonas del riñón y del cerebro mientras que COX1 es expresada en forma configurativa en el estómago lo cual explica el grado de toxicidad menor con el uso de inhibidores de la COX2.

El ácido araquidónico también puede ser transformado por medio de la vía de la 5-lipooxigenasa en diversos leucotrienos.⁹

El mecanismo de acción de los AINES clásicos consiste en la inhibición de la COX de manera que impiden la síntesis de distintos eicosanoides a partir del ácido araquidónico. Estos eicosanoides (prostaglandinas) son los responsables en diversos grados de los mecanismos patogénicos de la inflamación, el dolor y de la fiebre, pero también de otros muchos procesos fisiológicos y su inhibición la responsable de los principales efectos tanto terapéuticos como adversos de estos fármacos la COX tiene dos isoformas; la 1 es la responsable de la síntesis de prostaglandinas con función de protección de la mucosa gástrica (citoprotectoras) y que regulan la actividad renal y actividad plaquetaria, la COX 2 es la principal isoenzima asociada a la inflamación, se expresa en menos tejidos en condiciones normales (SNC, riñón y aparato reproductor), pero es inducida en respuesta a estímulos inflamatorios en macrófagos, monocitos y células endoteliales.²⁶

La indometacina se deriva del indol es uno de los inhibidores de prostaglandinas más potentes, es 20 veces más efectiva que la aspirina pero también es de los AINES más tóxicos.^{10,11}

Es un agente no esteroideo con propiedades analgésicas antiinflamatorias y antipiréticas. Desacopla la fosforilación oxidativa, estabiliza la membrana de los lisosomas, inhibe la agregación plaquetaria y prolonga el tiempo de sangrado. Se absorbe rápido y completo a través de la mucosa gastrointestinal y las concentraciones plasmáticas máximas en condiciones de ayuno se logran 3 horas después de su administración oral. Los efectos terapéuticos se detienen en concentraciones plasmáticas de 0.5 – 3 mg/mL y aparecen signos de toxicidad en concentraciones mayores a 5 mg/mL Se fija en 90% a las proteínas del plasma y su vida media es de 5 a 10 horas. Se metaboliza en el hígado por O-desmetilación y N-desalquilación y se conjuga con ácido glucorónico hasta que se excreta por bilis y orina. Hay circulación enterohepática del fármaco conjugado.¹⁰

Está indicada en el tratamiento de la osteoartritis moderada a severa; artritis reumatoide moderada a severa, incluyendo agudizaciones de la enfermedad crónica; espondilitis anquilosante moderada a severa; dolor agudo de hombro (bursitis subacromial aguda/tendinitis supraespinal), como tratamiento de la artritis gotosa aguda, de la artropatía degenerativa de la cadera, dolor lumbosacro, así como en el manejo de la inflamación, dolor e hinchazón consecutivos a operaciones ortopédicas o maniobras de reducción e inmovilizaciones.²⁷

2.7 MODELO ANIMAL

El animal de laboratorio es una de las piezas fundamentales en las ciencias biomédicas. Son usados como modelos para investigar y comprender las causas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades que afectan al humano y a los animales, además de sus importantes aportes en la docencia biológica y en el desarrollo, producción y control de medicamentos, alimentos y otros insumos, donde en muchos casos hasta la fecha son insustituibles.

Estos animales son para el investigador un reactivo biológico, por lo que su pureza debe ser vigilada, controlada y contrastada al igual que cualquier reactivo sin descuidar su posible contaminación biótica. Por esta razón se requiere la producción de animales “estandarizados o definidos con características genéticas y sanitarias definidas, criados en ambientes controlados que respeten los requerimientos de la especie, con el correcto cumplimiento de los principios éticos y de bienestar animal.

2.7.1 Diseño de la experimentación

Es sólo una parte del desarrollo de la investigación, su éxito depende de las condiciones de vida del animal y de la calidad de los recursos humanos. Se han especificado una serie de puntos y recomendaciones a seguir.

1. La selección adecuada del modelo animal.
2. La justificación del número de animales seleccionados está dado por procedimientos estadísticos. La selección del inóculo: dosis, vía y frecuencia de inoculación además de la determinación final del experimento.

3. Realizar los procedimientos experimentales adecuados que involucran la experiencia y profesionalidad en el método a aplicar además del reconocimiento del dolor, el manejo del alivio y la sedación. Hasta el momento se considera que cualquier procedimiento que cause dolor o estrés en humanos también puede causarlo en los animales. En roedores los cambios en el comportamiento, de actitud y apariencia del pelo corporal son indicadores de dolor.
4. Realización de pruebas piloto para madurar y definir la investigación en lo que concierne a la muestra y sus procedimientos.
5. Especificar el método de eutanasia y definir el punto final humanitario del experimento.³⁴⁻³⁶

2.8 ENSAYOS DE TOXICOLOGÍA

Constituyen hoy en día una parte muy importante dentro del desarrollo de un nuevo fármaco y se extiende prácticamente a lo largo de todo el proceso. El objetivo es evaluar el riesgo o peligro potencial que un agente químico o físico puede ocasionar sobre la salud cuando es objeto de exposiciones agudas o crónicas.

La toxicidad puede definirse como “el estudio cualitativo y cuantitativo de los efectos deletéreos ocasionados por agentes químicos o físicos sobre la estructura y función de los sistemas vivos y la aplicación de éstos estudios para la evaluación de la seguridad y la prevención de daño al hombre y a las formas de vida útiles.

En los animales se realizan diversos tipos de estudios toxicológicos los cuales tienen como finalidad general identificar los tipos de efectos adversos en la salud causados por

una sustancia química y la variedad de dosis sobre las cuales se produce efectos. Estos estudios pueden agruparse en 4 categorías principales.

- De corto plazo. También llamados de toxicidad aguda porque se basan en los efectos tóxicos producidos por una sola exposición a determinada sustancia. Pueden revelar el sistema de órganos diana de una sustancia, lo que constituye información importante en el diseño de pruebas adicionales.
- Subcrónicos o prolongados. Generalmente implican la dosificación diaria o intermitente durante varios días, semanas o meses. Este tipo de pruebas puede ayudar a identificar los órganos o tejidos diana que de manera específica sufren efectos perjudiciales por la exposición a una sustancia particular. También ofrece una oportunidad para observar como afecta a la respuesta tóxica el periodo de exposición. Para los agentes no carcinogénicos los estudios subcrónicos suelen ser suficientes para precisar el valor umbral, dosis bajo la cual no se observan efectos adversos significativos en la salud.
- Estudios crónicos. Suponen una dosificación diaria o intermitente durante una fracción significativa del proceso de vida, en general alrededor de dos años. Aunque pueden utilizarse para comprobar y perfeccionar los datos de los estudios subcrónicos, se usan principalmente para determinar el potencial carcinogénico de los productos químicos.
- Estudios especiales. Ciertos estudios se definen antes por el sujeto observado que por su duración. Algunas pruebas están específicamente diseñadas para evaluar el potencial de mutagénesis de las sustancias químicas. La mutagénesis es la capacidad de dichas sustancias para alterar el material genético en el núcleo de las células en formas que pueden transmitirse durante la división celular. Dado

que la mutagénesis a menudo conduce a la carcinogénesis, las pruebas mutagénicas generalmente se usan para seleccionar los niveles críticos de las sustancias tóxicas. En cuanto a los estudios en sí, ello implica la identificación de diversos niveles de respuesta.³⁷⁻³⁹

2.9 HÍGADO

Es el órgano interno más grande se localiza debajo del diafragma y las costillas, se extiende a través del lado izquierdo del cuerpo por encima del borde superior del estómago. El suministro de sangre es exclusivo proveniente del corazón y del tracto digestivo en forma directa a través de la vena porta.

Las funciones principales del hígado son:

- Convertir la glucosa en glucógeno y la almacena hasta que el organismo la necesita. También almacena vitaminas, hierro y minerales, hasta que el cuerpo los requiera.
- Produce triglicéridos, colesterol y lipoproteínas además de ácidos biliares.
- Elimina químicos, alcohol, toxinas y medicamentos del torrente sanguíneo y los envía a los riñones como urea para ser excretados por la orina o a los intestinos para ser eliminados por la defecación.

Debido a que el hígado es tan complejo es susceptible a una gran variedad de trastornos algunos causados por exceso de alcohol o medicamentos, otros por infecciones y otros trastornos metabólicos.

Cuando el hígado y sus células están lesionadas, liberan ciertas enzimas y otras sustancias en el torrente sanguíneo.²⁹⁻³¹

2.9.1 TGO y TGP

El paso inicial para detectar un problema en el hígado es la determinación de transaminasas, llamadas así porque catalizan reacciones en las células en las cuales un grupo amino es transferido de una molécula derivadora a una molécula recipiente.

Bajo circunstancias normales éstas enzimas residen dentro del hígado pero cuando hay un problema son derramadas al torrente sanguíneo. Las más representativas son la aminotransferasa de aspartato (AST, SGOT, TGO o GOT) y la aminotransferasa de alanina (ALT, SGPT, TGP o GTP) por lo tanto si en el suero hay una elevación en los niveles de éstas enzimas puede presumirse un daño hepático.

TGO. Normalmente se encuentra en el hígado corazón, músculos, riñones y cerebro. Es liberada en la sangre cuando cualquiera de éstos tejidos se encuentra en problemas.

TGP. No es producida exclusivamente por el hígado, pero es donde se encuentra más concentrada, es liberada a la circulación sanguínea cuando hay daño hepático; es una enzima con gran concentración en el hígado y en menor medida en los riñones, corazón y músculos. Cuando hay una lesión de éstos órganos la enzima es liberada a la sangre y aparece elevada en los análisis, como es una transaminasa más específicamente hepática que la GOT aparece más elevada en enfermedades hepáticas que en otras. Su determinación se realiza en el contexto de otras pruebas hepáticas y se utiliza para evaluar problemas o alteraciones del hígado, su elevación es directamente proporcional al daño celular y puede servir como indicativo de la evolución de la enfermedad. Los niveles aumentados de GPT pueden indicar alcoholismo, anemia hemolítica, cáncer de hígado, cirrosis, distrofia muscular, enfermedades renales agudas, enfermedades

musculares primarias, enfermedad de Wilson, hepatitis, infecciones víricas, isquemia hepática, medicamentos tóxicos al hígado o necrosis hepática.

Son encontrados niveles más altos de TGO y TGP en desordenes que causan la muerte de numerosas células (necrosis hepática extensa). Ésta acontece en la hepatitis aguda A y B, en el daño pronunciado infligido por toxinas como la de una sobredosis de acetaminofen o cuando el hígado es privado de sangre fresca que trae oxígeno y nutrientes.^{43, 44}

2.10 BAZO

Es un órgano que se encuentra en el costado izquierdo por arriba del estómago y debajo de las costillas, tiene el tamaño aproximado de un puño. El bazo forma parte del sistema linfático que combate las infecciones y mantiene el equilibrio de líquidos en el cuerpo, es el mayor de los órganos linfáticos, está en el peritoneo, se sitúa en el hipocondrio izquierdo de la cavidad abdominal, detrás del estómago y debajo del diafragma, unido a él por el ligamento frenoesplénico. El bazo está sujeto por bandas fibrosas unidas al peritoneo, se relaciona con la 9na, 10ma y 11va costilla izquierda. Reposa sobre la flexura cólica izquierda o ángulo esplénico del colon unido a éste por el ligamento esplenomesocólico y hace contacto con el estómago por el epiplón gastroesplénico así como con el riñón izquierdo. Está irrigado principalmente por la arteria esplénica, rama terminal del tronco celíaco, dicha arteria se divide en 2 ramas, una superior y otra inferior, luego de ingresar al órgano a través del hilio estableciendo así un criterio de segmentación esplénica.

Sus funciones principales son:

- Inmunidad humoral y celular. Los antígenos son filtrados desde la sangre circulante y se transportan a los centros germinales del órgano, donde se sintetiza inmunoglobulina M. Además el bazo es fundamental en la producción de opsoninas tuftina y propertina, que cobran importancia en la fagocitosis de las bacterias con cápsula.
- Hemáticas. Durante la gestación, el bazo se caracteriza por ser un importante productor de eritrocitos en el feto pero en los adultos ésta función desaparece, solo activándose en trastornos mieloproliferativos.
- Maduración y destrucción de los glóbulos rojos. En el bazo se produce el modelo de los reticulocitos hasta que se forman discos bicóncavos, así como se produce la eliminación de los glóbulos rojos viejos, anómalos o que se encuentran en mal estado.^{40,41}

2.10.1 Esplenomegalia. Es un agrandamiento patológico del bazo más allá de sus dimensiones normales, también puede considerarse en función del peso.

Causas

- Infecciones. Mononucleosis infecciosa, parasitosis, bacterianas, enfermedad por arañazo de gato.
- Patología hepática. Insuficiencia hepática, colestasis hepática, cirrosis, colangitis esclerosante, fibrosis quística, atresia biliar, enfermedad de Wilson.
- Procesos tumorales. Linfoma, enfermedad de Hodgkin, leucemia.

- Anemias hemolíticas. Hemoglobinopatías, talasemia, anemia hemolítica inmunitaria, anemia hemolítica por deficiencia 6, G-PD, anemia hemolítica idiopática autoinmunitaria.
- Otras causas como sarcoidosis, síndrome de Felty, crisis esplénica drepanocítica y enfermedad de Gaucher.^{42,45}

2.11 MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA

Se considera medicina tradicional mexicana, al conjunto de sistemas de atención a la salud que tiene sus raíces en profundos conocimientos sobre la salud y la enfermedad que los diferentes pueblos indígenas y rurales de nuestro país han acumulado a través de su historia, fundamentados en una interpretación del mundo (cosmovisión), de la salud y enfermedad de origen prehispánico, que ha incorporado provenientes de otras medicinas, como la medicina antigua española, la medicina africana y en menor medida por la interacción de la propia medicina occidental.

La herbolaria, como se conoce a la práctica terapéutica que utiliza plantas medicinales, continúa vigente y tiene gran arraigo en nuestro país. Las plantas medicinales aún constituyen el recurso más conocido y accesible para grandes núcleos de la población mexicana. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el valor de esta práctica terapéutica y le otorga gran importancia en los esquemas o sistemas públicos para la salud.

La extraordinaria riqueza de la floresta mexicana (26,500 especies, de las cuales aproximadamente 9,500 son endémicas), ubica a nuestro país en el cuarto lugar mundial, esto ha permitido que la herbolaria floreciera desde la época prehispánica, además de que buena parte de esos conocimientos han perdurado hasta nuestros días y

los conocimientos empíricos han sido transmitidos durante siglos por los indígenas y aún continúan siendo los depositarios de este legado.

Se han registrado en México alrededor de 4,000 especies con atributos medicinales (15% de la flora total). De 1930 a 1970 se produjo una drástica disminución en el uso de sustancias naturales con propiedades medicinales. Esto fue provocado por la producción, a gran escala, de productos sintéticos con características similares o aparentemente de mayor eficacia curativa. Sin embargo, al presentarse un resurgimiento de enfermedades que se creían erradicadas (paludismo, tuberculosis, parasitosis diversas, etc.), así como la creciente incidencia de cáncer y la aparición del SIDA, se ha considerado necesario y urgente intensificar la búsqueda de nuevas sustancias.²⁹

La medicina tradicional indígena está reconocida en la Constitución Política (Art. 2) como derecho cultural de los pueblos indígenas. En sus expresiones más profundas, comprende:

1. El universo como totalidad interconectada, el cuerpo humano, que incluye a la mente y el espíritu, conectado estrechamente a ese universo.
2. Un entendimiento y clasificación (nosología) de las diferentes plantas, coherente con toda la cosmovisión y concepción de la salud y enfermedad.
3. Un entendimiento de las causas de enfermedad que toma en cuenta que rompen el equilibrio frío-calor del cuerpo, derivados del comportamiento individual y de las relaciones sociales, ambientales y espirituales, así otras causas como los desórdenes alimenticios, movimientos bruscos, alteraciones de la fuerza vital.

4. Un conjunto amplio de procedimientos preventivos, enfocados a la exclusión y control de los factores desequilibradores, sobre todo con respecto al equilibrio de frío – calor.

5. Una serie de estrategias para diagnosticar las enfermedades y los desequilibrios, inmersa en el conjunto del sistema.

6. Y un amplio conjunto de elementos terapéuticos, que incluyen la herbolaria, el uso de productos animales y minerales. Además:

- Diferentes tipos de masajes, entre los que encontramos fricciones, acomodamientos, succiones y apretadas, entre otros.
- Punciones con diferentes tipos de espinas vegetales y animales. La utilización del frío y humedad a través del uso de barro, calor y humedad, a través del temazcal y el calor de brazas de carbón.
- La medicina tradicional también comprende otros procedimientos como la utilización de limpias, ensalmos, y diversos ritos. Entre éstos destacan los relacionados con la agricultura, con el objetivo de encontrar la armonía con las fuerzas y divinidades de la naturaleza, con el nacimiento, con el hogar y también con la salud.²⁸

En México, el conocimiento empírico local acerca de las propiedades medicinales de las plantas es utilizado como remedio casero. Esto es generalmente aceptado por muchas personas sin embargo no en todos los casos se ha comprobado la eficacia de las plantas así como su inocuidad o en ciertos casos toxicidad. Estos datos farmacológicos son imprescindibles para asegurar la seguridad de los remedios herbolarios que son usados por muchas personas como forma de automedicación.

La reciente valoración del conocimiento tradicional abrió la puerta para el rescate y promoción de la medicina tradicional, que se ha centrado en la herbolaria sujeta al escrutinio y validación de la medicina hegemónica a través de estudios de laboratorio. En el México antiguo, existieron escuelas de médicos tradicionales que fueron destruidas y perseguidas en la colonización. Es probable que lo que nos queda sea ahora un plato roto de lo que fue la ciencia antigua médica.

El origen que se conoce de las plantas medicinales que han formado parte importante de la historia y de la cultura de los pueblos indígenas, se refiere a su uso y aplicación como remedio de enfermedades, pues constituye un conocimiento que aún en nuestros días se transmite en forma oral de generación en generación. Entre estos productos se encuentran: pomadas, jarabes, té, jabones, shampoo entre otros.¹³⁻¹⁵

2.11.1 PLANTA MEDICINAL

Son todas aquellas que contienen en alguno de sus órganos o extractos, principios activos, los cuales administrados en dosis suficientes producen efectos curativos son utilizados como drogas o medicamentos de alguna afección o enfermedad que padece un individuo o animal. Puede ser suministrada a través de diferentes alternativas: cápsulas, comprimidos, cremas, elixir, decocción, infusión, jarabe, pomada, tintura y unguento, entre otras, la más frecuente y común es la infusión, en la cual el principio activo es disuelto en agua mediante una cocción más o menos larga y la tisana que resulta de ésta se beberá.

El gran desarrollo y evolución de la industria farmacéutica se ha basado en el uso de los principios activos extraídos de las plantas que posteriormente se sintetizan.^{15,28}

2.12 GORDOLOBO (*Gnaphalium semiamplexicaule* D.C)

El gordolobo (*Gnaphalium sp.*) es una planta herbácea de 30 a 80 cm de altura, lanosa, con hojas alternas, angostas y largas, flores numerosas de color blanco, blanco cremoso o amarillas. Las flores del margen son femeninas, las del centro, hermafroditas,

INFORMACIÓN TAXONÓMICA

Reino: *plantae*

Phylum: *magnoliophyta*

Clase: *magnoliopsida*

Orden: *asterales*

Familia: *asteraceae*

Género: *gnaphalium*

Epíteto específico: *semiamplexicaule*

INFORMACIÓN GEOGRÁFICA

Continente: América del norte

País: México

Estado: Michoacán, Veracruz, Distrito Federal, Hidalgo y Tlaxcala

Localidad: México, Coahuila, Saltillo, Sierra de Zapaliname, Cañón del norte de Lomas de Lourdes.

Habitat: Bosque de encino con *Quercus laeta*, árboles aislados de *Quercus saltillensis* y *Quercus grisea*. Ladera baja de sierra.

Hierba de 40 cm a 1.5 cm de altura con tallos aterciopelados de color blanquecino, las hojas son más largas que anchas pero pequeñas un poco velludas, las flores son amarillentas o blanquecinas y están reunidas en cabezuelas, se ven plateadas con la luz del sol. Originaria de México, habita en clima templado entre los 2000 y los 3000 metros sobre el nivel del mar, asociada a vegetación perturbada de pastizal, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino.

Las propiedades medicinales que se le atribuyen popularmente a esta planta se relacionan con la cura de padecimientos respiratorios como bronquitis, asma, inflamación e irritación de la garganta (Veracruz), pero el uso más frecuente se registra en el centro del país contra la tos. En el tratamiento de estos padecimientos se emplea la parte aérea preparada en cocimiento y administrada por vía oral, asimismo se le ocupa para lavar heridas y granos y para estimular la circulación sanguínea en várices y hemorroides.

Forma parte del grupo de aquellas especies pectorales que, entre otras cuestiones, se utiliza en el tratamiento de la inflamación en vías respiratorias. Cuenta con una serie de mucílagos suavizantes y harpugósidos antiinflamatorios que permiten la utilización de sus flores en la inflamación de la garganta y traqueítis.¹⁶⁻²⁰

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La respuesta inflamatoria aguda o crónica es de las manifestaciones más comunes en la población mundial, en la actualidad hay medicamentos eficaces para aminorar los síntomas de manera rápida y segura. Sin embargo un amplio sector de la población utiliza remedios tradicionales para disminuir las molestias causadas por esta reacción de defensa, acude principalmente a la preparación de infusiones cuyo conocimiento es heredado de generación en generación sin más fundamento científico que la experiencia práctica. *Gnaphalium semiamplexicaule* es utilizado en forma de infusión acuosa para tratar éste padecimiento administrado de forma oral sin una dosis controlada ni un estudio previo sobre su uso. Es por esto que resulta importante comprobar o denegar su funcionamiento en el proceso inflamatorio así como corroborar que no presenta efectos secundarios que afecten la salud del paciente. Este estudio experimental se enfocó en comprobar la actividad antiinflamatoria mediante un modelo en ratones.

4. HIPÓTESIS

Al administrar el extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule* por vía oral se espera observar un efecto antiinflamatorio en ratones CD1 que se les ha inducido un proceso de inflamación aguda y sub-aguda.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el extracto etanólico de Gordolobo (*Gnaphalium semiamplexicaule*) en un modelo de ratones CD1 con el fin de comprobar o descartar el efecto antiinflamatorio del mismo.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener el extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule* para administrarlo vía oral a ratones machos CD1.
- Comprobar el efecto antiinflamatorio del extracto en modelos de inflamación aguda y sub-aguda.
- Analizar órganos susceptibles a intoxicarse con el fin de evaluar si el extracto causa algún efecto secundario desfavorable en los ratones.
- Determinar ceruloplasmina y nitritos en el plasma de los ratones tratados.
- Realizar las pruebas diagnósticas correspondientes a los órganos dañados en el tratamiento.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diseño (Tipo de Estudio)

Experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo

6.2 Universo (Población de estudio)

Ratones CD1

6.3 Variables

6.3.1 Independientes

Tratamiento

Control negativo (solución salina)

Extracto etanólico (25, 50 y 100 mg/Kg)

Indometacina (10 mg/Kg)

Hidrocortisona (15 mg/Kg)

6.3.2 Dependientes

Grosor de la pata en el ensayo agudo

Peso del pellet de algodón en el ensayo sub-agudo

Marcadores (nitritos y ceruloplasmina)

6.4 Técnicas

6.4.1 Obtención del extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule*

Material

Matraz Erlenmeyer 1L. Pirex

Embudo de vidrio Pirex

Embudo Büchner s/marca

Vaso de precipitado 500 mL Kimax

Matraz volumétrico 1000 mL Kimax

Cajas Petri Kimax

Espátula de acero inoxidable

Mortero con pistilo s/marca

Gasas

Papel filtro Whatman

Flor de *Gnaphalium semiamplexicaule*

Etanol J.T. Baker

Equipo	Marca
Rotavapor	Yamato Modelo BM500
Bomba de vacío	Koblenz
Estufa	Shel Lab

Instrumento	Marca
Balanza granataria	OHAUS

Procedimiento

1. Se adquirió la planta (gordolobo) en el mercado municipal “Las águilas” en el municipio de Netzahualcóyotl, Estado de México, la planta se conservó en una bolsa plástica y se utilizó al día siguiente de su compra.
2. Se autenticó en el herbario FEZA-UNAM de la FES-Zaragoza para asignarle un número de identificación.
3. Se eligieron las flores de la planta y se pesaron 200 g para después triturarlas en un mortero.
4. La flor pulverizada se colocó en un matraz erlenmeyer de un 1 L con etanol a temperatura ambiente durante 36 horas.
5. La solución se filtró al vacío en papel Whatman No. 2
6. Se eliminó el disolvente del filtrado en un rotavapor a una temperatura de 50 °C.
7. El extracto obtenido se dejó secar por dos días a una temperatura ambiente para posteriormente mantenerla en un recipiente de vidrio ámbar en refrigeración hasta el momento de su uso.

6.4.2 Ensayo de inflamación aguda

Material biológico

30 ratones machos CD1

Material de laboratorio

Sonda gástrica Animal feedingneedles, 20GX 1-1/2" Poper and Sons, Inc. Newhyde Park, NJ, USA

Vasos de precipitado 20, 100 y 250 mL Kimax

Tubos de ensayo 13x100 s/marca

Pipetas Pasteur s/marca

Jeringas de 1 mL BD PLASTIPACK®

Reactivos

Extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule*

Carragenina tipo IV Sigma

Indometacina Indocid cápsulas de 25 mg Aspen Port Elizabeth Pty Ltd, Sudáfrica

Goma ghatti

Solución salina inyectable 0.9%

Equipos e Instrumentos

Equipo	Marca
Vortex	Scientific industries, Inc. Modelo K-550G

Sonicador	Sonics
-----------	--------

Instrumento	Marca	Capacidad
Balanza granataria	OHAUS	
Balanza analítica	ae ADAMS	
Pipetas graduadas	VWRbrand	1,2 y 5 mL
Micrómetro	Scala	

Procedimiento del Modelo de edema en cojinete plantar de ratón con carragenina

1. Se formaron 5 grupos con 6 ratones cada uno, se identificaron como grupo control negativo, positivo y 3 tratados con el extracto etanólico a 25, 50 y 100 mg/Kg y se mantuvieron en ayuno durante 16 horas con acceso libre de agua.
2. Se pesó a cada uno de los ratones y se le midió el grosor de la pata trasera izquierda. Se registró como t=0.
3. Se inyectaron 50 µL de carragenina al 1% en el cojinete plantar de la pata medida.
4. Con ayuda de una sonda gástrica se administró oralmente al grupo control negativo solución salina (10 mg/Kg), al grupo control positivo indometacina (10 mg/kg) la cual fue disuelta en goma ghatti al 1% en agua destilada y a los grupos tratamiento 25, 50 o 100 mg/kg del extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule*.
5. Usando un micrómetro se midió el grosor de la pata a los tiempos 1, 2, 3, 4 y 5 horas después de la administración de carragenina.

6.4.3 Ensayo de inflamación Sub-aguda

Material de laboratorio

Sonda gástrica Animal feeding needles, 20GX 1-1/2" Poper and Sons, Inc. Newhyde Park, NJ, USA

Pellets de algodón estandarizados a 10 mg de peso

Microtubos eppendorff

Jeringas de 1 mL BD PLASTIPACK®

Vasos de precipitados de 20, 100 y 250 mL Kimax

Placa de 96 pozos para ensayos de microtitulación Cooke

Cámara de éter

Cajas Petri Kimax

Estuche de disección s/marca

Tabla de disección s/marca

Reactivos

Extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule*

Solución salina inyectable 0.9%

Hidrocortisona Flebocortid solución inyectable de 100 mg Janssen-Cilag

Equipos e Instrumentos

Equipo	Marca
Vortex	Scientific Industries, Inc. Modelo K-550G
Sonicador	SONICS
Estufa	Shel Lab
Microcentrífuga	Hermle Modelo Z233M-2

Instrumento	Marca
Balanza analítica	ae ADAM
Pipetas graduadas	VWRbrand

Procedimiento del modelo de granuloma inducido con pellets de algodón

1. Se hicieron 50 pellets de algodón cada uno de 10 mg pesados exactamente, se esterilizaron en autoclave.
2. Se formaron 5 grupos de 6 ratones cada uno y se identificaron como grupo control positivo, negativo y tratamiento de 25, 50 y 100 mg/Kg.
3. A cada ratón se le implantó subcutáneamente en el dorso un pellet previamente esterilizado y se sanitizó la herida.
4. Con ayuda de una sonda gástrica se administró al control negativo solución salina 10 mg/kg, al grupo control positivo hidrocortisona 15 mg/kg y a los grupos tratamiento el extracto de *Gnaphalium semiamplexicaule* a 25, 50 y 100 mg/kg durante 10 días ajustando el volumen administrado de acuerdo al peso del ratón que se registró cada tercer día.
5. Se observó el comportamiento físico y conductual de cada ratón durante los 10 días de administración del tratamiento.
6. Al término del tratamiento cada ratón fue anestesiado en una cámara de éter y se le realizó una incisión axilar para recolectar en microtubos un volumen aproximado de 2 mL de sangre.

7. A cada ratón se le extrajo el pellet de algodón, se colocaron en la placa de microtitulación y se pesaron para obtener el peso húmedo. Al finalizar se secaron en la estufa a 37 °C durante una semana para después pesarlos nuevamente y así obtener el peso seco.

8. Las muestras de sangre obtenidas se centrifugaron a 5000 rpm durante 5 minutos. Con las pipetas Pasteur se separó el suero y se resguardó en congelación para su uso posterior.

9. Se extrajeron además, bazo, corazón, hígado y riñones de cada ratón, se colocaron en cajas Petri, se pesó cada órgano y se obtuvo el coeficiente de relación órgano/animal con la siguiente fórmula:

$$\text{Peso del órgano/Peso del ratón} \times 100$$

10. Después se realizaron las pruebas serológicas e inmunológicas.

11. Con los resultados se realizó el análisis estadístico.

6.4.4 Determinación de ceruloplasmina

Material biológico

Suero de 30 ratones CD1 tratados en el ensayo de inflamación sub-aguda

Suero de conejo anti-ceruloplasmina

Material

Vasos de precipitado de 50 mL Kimax

Tubos de ensayo de 13 x 100 mm s/marca

Placas de 35 mm Falcon

Reactivos

Agarosa Bioxon al 1%

PBS (Buffer de fosfatos)

Azida de sodio SIGMA

Equipos e Instrumentos

Equipo	Marca
Baño metabólico	PRECISIÓN
Horno de microondas	SONICS

Instrumento	Marca	Capacidad
Balanza analítica	ae ADAM	
Pipetas graduadas	VWRbrand	2 y 5 mL
Micropipeta	Labsystems-Modelo 046908	40-200 μ L
Micropipeta	Socorex Swiss	5-50 μ L

Procedimiento

1. Se colocaron 6 tubos de ensaye en un baño metabólico preparado a 45 °C.
2. Se pesaron 0.2 g de agarosa y se colocaron en 20 mL de PBS, se disolvieron en el horno de microondas en 3 ciclos de 10 segundos.
3. A cada tubo de ensaye se le agregaron 2 mL de agarosa, 150 μ L de suero anti-ceruloplasmina de ratón obtenido de un conejo y se agitaron en un vórtex para después

depositar la solución de cada tubo en una placa Falcon de 35 mm, se tapó la caja y se dejó gelificar por 5 minutos a temperatura ambiente.

4. A cada pozo de la caja Falcón se le realizaron 4 pequeños orificios con una distancia entre uno y otro de 1 cm en el sentido de las manecillas del reloj.

5. En cada orificio se colocaron 5 μ L del suero de cada ratón utilizado en el ensayo de inflamación crónica. La placa se mantuvo en refrigeración durante 48 horas.

6. Al termino de éste tiempo se realizaron las mediciones de los halos de precipitación de los orificios de ésta forma se obtuvo la concentración de cada uno tomando como referencia una concentración de 21.6 mg/dL de ceruloplasmina en un halo de precipitación de 4 mm de diámetro.

6.4.5 Determinación de nitritos

6.4.5.1 Plateado de Cadmio

Material de laboratorio

Tubos de ensaye 13 x 100 mm s/marca

Matraz volumétrico Kimax

Reactivos

Cadmio granular

Ácido clorhídrico

Sulfato de cobre 5%

Cloruro de amonio 5% pH= 9

Sulfato de zinc

Nitrito de sodio

Agua destilada

Equipos e Instrumentos

Equipo	Marca
Rocker platform	Bellco Glass Inc.
Centrífuga	Hamilton Bell
Vortex	Scientific Industries, Inc. Modelo K-550G

Instrumento	Marca	Capacidad
Balanza analítica	ae ADAM	
Pipetas graduadas		2 y 5 mL
Micropipeta	Labsystems-Modelo 046908	40-200 μL
Micropipeta	Labsystems	100-1000 μL
Espectrofotómetro UV/VIS	Jenway Modelo 6305	

Procedimiento

1. A 30 tubos de ensaye de 13 x 100 se les colocaron 0.5 g de cadmio metálico y se lavaron con ácido clorhídrico 0.1N.
2. Se agregaron 2 mL de sulfato de cobre al 5% y se agitaron por 10 min en un agitador de placa horizontal, se lavaron 3 veces con agua destilada y así se eliminó el cobre.
3. Se lavaron nuevamente con ácido clorhídrico 0.1N y se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos.

4. Se lavaron con cloruro de amonio al 5% a pH=9 y se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos.
5. A 100 μL de suero se agregaron 300 μL de agua destilada y se agitó.
6. Se adicionaron 20 mL de sulfato de zinc, se mezcló y posteriormente se centrifugó a 10 000 rpm durante 5 minutos.
7. Se eliminó el cloruro de amonio de los tubos con cadmio activado y se adicionó el sobrenadante del centrifugado anterior.
8. Se agitó en un agitador rocker durante 15 minutos y se centrifugó durante 5 minutos a 3500 rpm.
9. Se tomaron 200 μL del sobrenadante.

6.4.5.2 Ensayo

1. Se preparó una solución de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de nitrito de sodio unos instantes antes de su utilización.
2. Se preparó la siguiente curva de calibración:

Tubo	Estándar	Agua destilada (μL)	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	0	900	0
2	100	800	0.20
3	200	700	0.40
4	300	600	0.60
5	400	500	0.80
6	500	400	1
Muestra	200 del sobrenadante	700	-

3. Se adicionaron 50 mL de sulfanilamida y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente.
4. Se adicionaron 50 mL del reactivo de NED, se mezcló e incubó 30 minutos a temperatura ambiente.
5. Se leyó en el espectrofotómetro a 540 nm.

6.4.6 Determinación de marcadores enzimáticos

Se determinaron las enzimas TGO Y TPG en el equipo automatizado ILAB 600.

6.5 Análisis Estadístico

El análisis de los datos se realizó con el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 21, los resultados obtenidos en cada ensayo se evaluaron mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA) complementada con una prueba de Tukey como Post Hoc teniendo como intervalo de confianza un 95%.

7. RESULTADOS

La planta se autenticó en el herbario de FES Zaragoza (FEZA-UNAM), se le asignó el número FEZA 13450 por la M. en C. María Magdalena Ayala Hernández y un voucher del espécimen fue depositado en este herbario.

El extracto se realizó con 200 g de flores las cuales se secaron y molieron, después se obtuvo el extracto etanólico a 50 °C y bajo vacío en un rotavapor. El rendimiento fue del 5.7%

7.1 Ensayo de inflamación aguda

Se realizó el análisis estadístico de los datos ANOVA para (t3-t1) y (t5-t1) y en ambos no se encontraron diferencias significativas con una $p > 0.05$, como se muestra en los gráficos 1 y 2.

Gráfico 1. Medias y desviación estándar de las medidas del cojinete plantar (t3-t1)

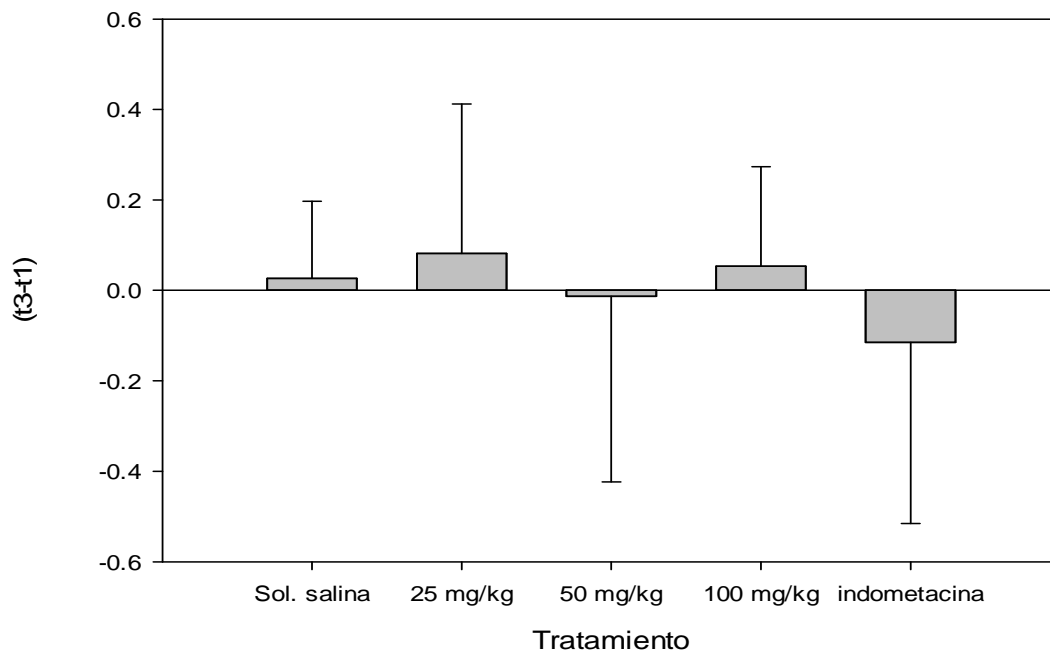


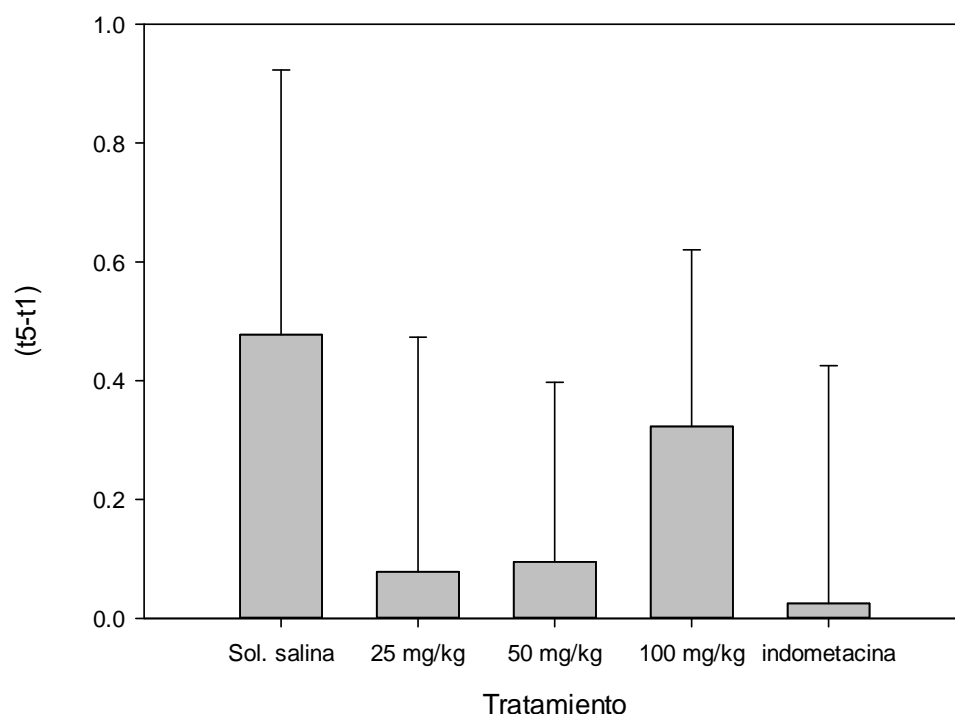
Grafico 2. Medias y desviación estándar de las medidas del cojinete plantar (t5-t1)**7.2 Ensayo de inflamación sub-aguda**

Tabla 1. Medias y desviación estándar del peso húmedo y seco de los pellets en cada tratamiento n=6.

Parámetro	Control (-)	Tratamiento con el extracto			Control (+)
	Solución salina	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	Hidrocortisona
Peso húmedo (mg)	89.3 ± 11.80	93.18 ± 10.45	86.73 ± 11.50	90.65 ± 9.16	80.0 ± 5.15
Peso seco (mg)	18.77 ± 1.82	19.52 ± 2.05	19.42 ± 2.18	18.3 ± 1.62	16.05 ± 0.83

Se realizó prueba ANOVA y no se encontraron diferencias significativas en los grupos con una $p > 0.05$.

Tabla 2. Media y desviación estándar de la concentración de ceruloplasmina en los diferentes tratamientos.

Control (-)	Tratamiento con el extracto			Control (+)
Solución salina	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	Hidrocortisona
11.50 ± 0.55	9.25 ± 1.89	8.58 ± 0.38	8.08 ± 0.49	4.91 ± 0.66

Pruebas Post-hoc ANOVA y Tukey

Tabla 3. Subconjuntos homogéneos de acuerdo a la concentración de ceruloplasmina.

Tratamiento		Subconjunto para $\alpha = 0.05$		
		1	2	3
Control (+)	Hidrocortisona	4.9167		
Extracto	25 mg/kg		8.08	
	50 mg/kg		8.58	
	100 mg/kg		9.25	
Control (-)	Sol. Salina			11.5

Tabla 4. Media y desviación estándar de la concentración de nitritos en los diferentes tratamientos.

Control (-)	Tratamiento con el extracto			Control (+)
Solución salina	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	Hidrocortisona
59.73±20.55	89.3±47.89	42.76±24.65	90.56±77.12	73.33±46.53

Se realizó la prueba ANOVA y no se encontraron diferencias significativas en los grupos con una $p > 0.05$.

Tabla 5. Medias y desviaciones estándar de los índices obtenidos en los órganos diseccionados en los grupos de ratones.

Índice	Control (-)	Extracto			Control (+)
	Sol. Salina	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	Hidrocortisona
Hepático	4.96 ± 0.31	6.39 ± 0.55	6.06 ± 0.73	5.77 ± 0.73	5.47 ± 0.30
Renal	1.29 ± 0.14	1.30 ± 0.13	1.37 ± 0.15	1.27 ± 0.11	1.23 ± 0.10
Cardíaco	0.44 ± 0.04	0.42 ± 0.06	0.44 ± 0.05	0.44 ± 0.05	0.38 ± 0.05
Esplénico	0.29 ± 0.04	0.36 ± 0.06	0.38 ± 0.05	0.40 ± 0.07	0.17 ± 0.09

Se realizó la prueba de ANOVA y prueba Tukey como Post hoc a todos los pesos de los órganos (corazón, bazo, hígado y riñones) donde la $p > 0.05$ es para riñones y corazón, y donde si hubo diferencias con una $p < 0.05$ es en bazo e hígado. Se muestran en la tabla 6 y 7 los subconjuntos homogéneos de acuerdo a los índices obtenidos.

Tabla 6. Subconjuntos para índice hepático.

Tratamiento		Subconjunto para $\alpha = 0.05$	
		1	2
Control (-)	Sol. Salina	4.96	
Control (+)	Hidrocortisona	5.47	
Extracto	100 mg/kg	5.77	
	50 mg/kg		6.06
	25 mg/kg		6.39

Tabla 7. Subconjuntos para índice esplénico.

Tratamiento		Subconjunto para $\alpha = 0.05$	
		1	2
Control (+)	Hidrocortisona	0.17	
Control (-)	Sol. Salina		0.29
Extracto	25 mg/kg		0.36
	50 mg/kg		0.38
	100 mg/kg		0.4

7.2.1 Enzimas hepáticas

Tabla 8. Resultados de la prueba de ANOVA en donde $p < 0.05$ y la post hoc de Tukey para la formación de subconjuntos de los tratamientos en la determinación de TGP.

Tratamiento	Subconjunto para $\alpha = 0.05$	
	1	2
extracto 50 mg/kg	41.83	
extracto 100 mg/kg	48	
control (-) s. salina	50.1	
extracto 25 mg/kg		63.17

8. DISCUSIÓN

Las plantas medicinales han sido un punto clave en el alivio de enfermedades y sus síntomas desde tiempos remotos, es la base de la medicina actual además de dar identidad a los pueblos que la practican hasta nuestros días, de este modo constituyen también herencia y legado por lo cual es común tener practicas herbolarias en ciudades y comunidades rurales. El gordolobo es ampliamente utilizado como terapia natural y alternativa en síntomas como la inflamación.

En el ensayo de inflamación aguda, se calcularon las medias de las diferencias del tiempo 3 contra el tiempo 1 y del tiempo 5 contra el tiempo 1. Se realizó el análisis estadístico ANOVA y no se encontraron diferencias significativas con una $p > 0.05$.

En los gráficos 1 y 2 de caja y bigote para las diferencias (t_3-t_1) y (t_5-t_1) respectivamente se observa que la desviación estándar es muy grande entre los diferentes grupos alrededor de la media aritmética, es por esto que no hay diferencia significativa en las medias con una $p > 0.05$.

En el ensayo de inflamación sub-aguda, se indujo un granuloma al insertar un pellet de algodón en el dorso de los ratones, al pesarlos húmedos y después de un proceso de secado se observó que el peso en los grupos tratados con el extracto es superior a los ratones del grupo control positivo (Tabla 1). Al realizar el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas con una $p > 0.05$ por lo tanto no hay efecto antiinflamatorio.

Los niveles de ceruloplasmina en un proceso inflamatorio sub-agudo se ven ligeramente disminuidos en las 3 concentraciones del extracto en comparación con la solución salina y el efecto antiinflamatorio de la hidrocortisona fue el esperado como se observa en la tabla 3.

En la Tabla 4, se muestran las medias y desviaciones estándar de la concentración de nitritos en los diferentes grupos de ratones. El grupo al que se le administró el extracto 50 mg/kg, presentó concentraciones más bajas que las obtenidas en el grupo al que se le administró hidrocortisona esto sugiere una baja en la producción de elementos oxidantes por parte de células activadas en el proceso inflamatorio. Sin embargo, al

realizar la prueba de ANOVA no se observan diferencias estadísticamente significativas con una $p > 0.05$.

En el caso de los índices de los órganos se realizó la prueba de ANOVA a las medias obtenidas (Tabla 5) y se encontraron diferencias significativas con una $p < 0.05$ en el hígado y el bazo. Se observó un proceso de desinflamación en bazo en el caso de la hidrocortisona, no así con las diferentes concentraciones del extracto y en hígado el extracto a 25 y 50 mg/kg presenta una ligera hepatomegalia.

Se realizó una comparación de medias en los niveles de TGO y TGP para confirmar o descartar daño hepático. En el caso de TGO no se encontraron diferencias con una significancia de 0.05, en cambio para TGP el grupo en tratamiento con extracto a 25 mg/kg presenta diferencia de media respecto al control negativo (Tabla 8), ésta enzima es propia del hígado de modo tal que niveles altos en plasma implica daño en los hepatocitos. El modelo en ratones fué utilizado por la similitud del metabolismo de los humanos, éste resultado sugiere que los pacientes que ingieren el extracto pueden presentar daño hepático.

9. CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule* no tiene actividad en un proceso inflamatorio agudo. Disminuye ligeramente los niveles de ceruloplasmina y la producción de nitritos se ve afectada, pero no de forma significativa; tampoco hay diferencias estadísticamente relevantes en el peso de los pellets por lo tanto no presenta efecto antiinflamatorio en fase sub-aguda, pero si daña de forma significativa los hepatocitos cuando se administra a una concentración de 25 mg/kg.

10. PERSPECTIVAS

Se sugiere realizar el ensayo con extracto acuoso y de esta forma ver si el etanol utilizado fue un factor determinante causante de los daños encontrados en los órganos.

Disminuir las concentraciones del extracto en el ensayo de toxicidad sub-aguda y así ampliar el tiempo de evaluación para observar su efecto.

Ampliar el tiempo del estudio de toxicidad y ver si la administración a lo largo del tiempo afecta de manera significativa otros órganos.

11. REFERENCIAS

1. Bordés R, Martínez M, García E, Guisado B. Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud, Departamento de Enfermería y Fisioterapia, Universidad de Granada. El proceso inflamatorio (Consultado el 7 de Feb. Del 13) <http://www.uclm.es/ab/enfermería/revista/número 4/ pinflamatorio 4.html>.
2. García P. Inflamación. RAC. 2008; 102 (1): 91-159.
3. Kumar V, Abbas K, Cotran R, Fausto N, Mitchel N, Robbins R. Patología Humana. 8va ed. Barcelona: Elsevier; 2008.
4. Robbins, Vinay, Abul A, Nelson F, Richard M. Patología humana (libro electrónico) España: Elsevier; 2008 (Consultado: 14 de Febrero de 2013).
5. Goldsby R, Kindt A, Osborne B, Kuby J. Inmunología, 5ª. Edición. México. McGraw Hill 2004; pag 368-374.
6. Villalobos G. farmacéutica Centro de Información de Medicamentos. Glucocorticoides (Consultado el 11 de feb. del 2013). [Disponible en <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed15.pdf>.]
7. Analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos (Consultado el 19 de Feb del 13) http://med.unne.edu.arl/catedras/farmacología/temas_farma/volumen 4/cap 7_AINES.pdf.
8. Nathan C. Points of control in inflammation. Nature. 2002; 420 (1): 846-852.
9. Chuaqui B, Duarte I, González S, Rosenberg H. Manual de Patología General. 2da ed. Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile; 2007.

10. Punchard A, Whelan C, Adcock J. The journal of Inflammation. J Inflamm. 2004; 1(1): 1-12.
11. Sánchez P, Sirera R, Peiró G, Palmero F. Estrés, depresión, inflamación y dolor. R.E.M.E. 2008; 11(28): 1-15.
12. Mendoza N. Farmacología médica, 2008 México Ed. Panamericana, pp 246-248.
13. Rodríguez F, Reyes E, Burchiel S, Herrera R, Torres E. Risk and Beneats of commonly used herbal medicines in México. Toxicol Appl Pharmacol. 2008 Feb 15;227(1): 125-135.
14. Bermúdez A, Oliveira M, Velázquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia. 2005; 30(8): 453-459.
15. Cosmel. REVISTA intercultural. El uso de las plantas medicinales (consultado el 25 de feb. Del 13) http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/8921/1/tra6_p23-26_2010-0.pdf.
16. Argueta A. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Internet]. México: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana; 2009 [Consultado el 18 de marzo del 13] Disponible en <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Gordolobo&id=7553>.
17. Instituto de Biología. *Gnaphalium semiamplexicaule* DC. UNIBIO: Colecciones Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. [Disponible en:

<http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:MEXU:PVsn23373>

[Consultada el 20 de marzo de 2013].

18. Arizona State University Vascular Plant Herbarium. SEINET. (Consultado el Miércoles 20 de marzo del 2013) [Disponible en [swbiodiversity.org.scinet/collections/individual/index.php?occid=1122492](http://swbiodiversity.org/scinet/collections/individual/index.php?occid=1122492)].
19. Instituto de biología "Gnaphalium semiamplexicaule CD-IBUNAM MEXU: Pvsn 23373" UNIBIO: Colecciones biológicas: 2010-05-07 Universidad Nacional Autónoma de México : (Consultada el Miércoles 20 de marzo del 2013) [Disponible en : http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:MEXU:PVsn_23373]
20. Balleza JJ. La familia asteraceae en el estado de Zacatecas (México). Instituto de Biología, UNAM. México 2002 Departamento de Botánica; 6-12.
21. Ceruloplasmina. Medline Plus (Consultado el 8 de abril del 2013) Disponible en <http://nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003662.html>.
22. Blanco PH, Garcia RSA, Hinojal FR. Proteínas estructurales y mediadores de la inflamación: marcadores para el diagnóstico postmortem de la isquemia miocárdica (estudio inmunohistoquímico). Cuaderno de medicina forense [serial on line] 2004 ene [citado el 8 de abril de 2013] Disponible en www.upch.edu.pe/urine/doc/nvanco.html.
23. Aguilar M, Gonzáles E, Perona J, Alvarez J, Padilla , Rivas F, Katarzyna P, Ocete E. Ceruloplasmina y su importancia clínica como factor indicador del riesgo cardiovascular en una población de escolares de granada. Nutricion hospitalaria

- [on line] [Consultado el 8 de abril del 013] Disponible en [http://\(cielo.isciii.es/scielo.php?pid=50212-16112011000300033&script=sci-arttext&ting=en](http://(cielo.isciii.es/scielo.php?pid=50212-16112011000300033&script=sci-arttext&ting=en).
24. Estere E, Ricart W, Fernandez JM: Inflamación y dislepia. Sección de diabetes, endocrinología y nutrición. Hospital Universitario de Girana. [Consultado el 10 de abril del 2013] Disponible en www.fresenius-kabi.es/nutricionenteral/pdf/simposios/simposio_2003_Barcelona_Inflamacion.pdf.
25. Arnaiz A, Regueiro J, López C. Inmunología. Madrid: Editorial Complutense; 1995.
26. AINES “Clásicos” e inhibidores selectivos de la COX-2 Boletín Farmacoterapéutico de Castilla de la Mancha [Consultado el 24 de abril de 2013] disponible en <http://sescam.jccm.es/web1/profesionales/farmacia/usoRacional/>.
27. Indometacina (Consultado el 25 de abril del 2013) Disponible en http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2K8/prods/PRODS/Indometacina.htm.
28. Medicina Tradicional Mexicana [Consultado el 25 de abril del 2013] Disponible en http://www.cdi.gob.mx/participación/duple/medicina_tradicional_indigena.pdf.
29. Fisiopatología de la enfermedad. Una introducción a la medicina Clínica. 6ta ed. México: Mc-GrawHill. Lange 497-522, 413-437.
30. Editorial: Is the liver fibrosis reversible?. The New England Journal of Medicine, Feb 8, 2001; Vol 344 No.6.
31. Friedman SL, Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. Journal of biological Chemistry, Vol 275, Issue 4, 2247-2250 Jan 28-2000

32. Rose NR et al. Manual of Clínic Laboratory Immunology 6th ed Washington, ASM 2000.
33. Stites D. et al. Inmunología Clínica, México, El manual moderno 1998.
34. Van Hoosier G. The age of biology opportunities and challenges for laboratory animal medicine. Scand J Lab Anim Sci 1999; 26(4): 176-184.
35. Zúñiga J, Tur M, Milocco S, Piñeriro R. Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal. México Mcgraw-Hill Interamericana, 2001; p. 682.
36. Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio Institute of laboratory animals National Reseach Council México: Academia Nacional de Medicina 2002, p. 148
37. Montoya M. Toxicología clínica. 3ra edición Mendéz Editores México 2012.
38. Jiménez R. Toxicología, 4ta ed. Editorial Días de Santos Méixo 2009.
39. Osorio D. Aspectos básicos de la farmacognosia. 2009 [Disponible en <http://farmacia.udea.edu.co/-FF/farmacognosia.pdf>] [13 octubre 2013].
40. M. Henry, Michael Cirugía Clínica. Masson 2005, pp .294
41. Gazitua R. Manual de Semiología, Escuela de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile. Chile 2007.
42. Stites P, Stobo J, Fudenberg H, Wells V. Inmunología básica y clínica. México: Editorial el manual moderno; 5 ed.1985. pp. 345-346.
43. García M, Zurita A. Transminasas: Valoración y significación clínica Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. 2003.

44. Lothar T. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and assessment of clinical laboratory results. English edition; 1998.
45. Parham P. El sistema immune. 3ra ed. México: Editorial El Manual moderno; 2011; pp. 21-28.