



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIINFLAMATORIA DE *Erythrina americana*
Miller**

T E S I S

**Que para obtener el título de
BIÓLOGO**

P R E S E N T A

Abraham Montaña Reyes

Directora de tesis

Dra. María Eugenia Garín Aguilar

Los Reyes Iztacala, Edo. De México, 2016

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE Dr. José Guillermo Ávila Acevedo

VOCAL Dr. Gustavo Valencia del Toro

SECRETARIO Dra. María Eugenia Garín Aguilar

SUPLENTE M. en C. David Segura Cobos

SUPLENTE M. en C. Leonor Ana María
Abundiz Bonilla

Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacobiología (L-514) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, bajo la dirección de la Dra. María Eugenia Garín Aguilar.

El trabajo contó con el apoyo del Laboratorio de Farmacología de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE), cuya responsable es la Dra. Beatriz Vázquez Cruz. En dicho laboratorio se realizaron los estudios de Migración Celular con la asesoría del M. en C. David Segura Cobos.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradecer a la **Universidad Nacional Autónoma de México** por permitirme estudiar en esta gran institución.

A la **Facultad de Estudios Superiores Iztacala** que me abrió sus puertas y darme un lugar en una de las mejores carreras que existen que es la de Biología.

A mi jurado de tesis:

El **Dr. Guillermo Ávila** por ser parte de mi comité de sinodales y por sus aportes en el trabajo.

Al **Dr. Gustavo Valencia** por todo su apoyo y observaciones que permitieron que el presente trabajo creciera de la mejor manera.

Al **Mtro. David Segura** por la asesoría brindada en el estudio de Migración Celular y sus observaciones al documento final.

A la **Mtra. Leonor Abundiz**, muchas gracias por sus observaciones y agradezco todo lo que me enseñó en clase y que hizo que me enamorara más de esta hermosa carrera.

A **Eduardo** por apoyarme en parte de la metodología.

Finalmente a la **Dra. María Eugenia Garín**, no tengo con que agradecerle todo el apoyo que me brindó y claro; que me soportó durante estos años, gracias por ser mi tutora y además por ser una gran amiga y compartirme tanto conocimiento así como las lecciones de vida que compartió a lo largo de este tiempo, gracias a todo eso y más me hicieron crecer como alumno y como persona. Muchas gracias.

DEDICATORIAS

A mi **mamá** por todo tu amor, esfuerzo, desvelos y apoyo para que nunca me faltara nada y pudiera salir adelante, agradezco que me apoyes en todo lo que me propongo a hacer, que me escuches y que compartas conmigo tantas y tantas cosas, que seas mi compañera de vida y mi mejor amiga, sin ti no podría ser la persona que soy hoy en día y que este trabajo también es parte tuyo, te amo de aquí al infinito. Gracias mamá

A mi **hermana**, que es mi segunda madre, te amo y te agradezco que siempre estés al pendiente de mi, que me apoyes y que siempre estés cuando más te necesito, gracias por todo tu cariño y amor que me das y sabes que te amo mucho así como a mis dos motores de vida **Toño** y **Sebastián**. Gracias hermanita.

A mis dos grandes y mejores amigos, que más que amigos ya son parte de mi familia: **Nelly** y **Alberto** sin ustedes no sé cómo sería mi vida, gracias por tanto apoyo, cariño, alegría, aventuras, risas y llanto que hemos pasado y que nos faltan. Los quiero como no tienen idea.

A mis compañeros y amigos que conocí durante la carrera: **Estefa, Lulu, Mayte, Karina, Zaira, Esme, Carlos, Huguito, Judith**, que aventuras pasamos juntos, gracias por todo.

Al equipo fasmido: **Ana**; amiga que bueno que te conocí, porque disfruto tu compañía y pasármela chévere te quierooooo, **Jacky** que contigo es morir de risa, **Jair** y **Tere** son lo máximo y que cuando estoy con ustedes aprendo y me divierto tanto los quiero.

A Diego y Fany que hicieron mi último año de la carrera la más divertida y estresante, **Fany** gracias por ser mi amiga manita y estar conmigo en tantas locuras de mi vida, y que sigamos haciéndolas, **Diego** (Bobby) que padre haber compartido tanto conocimiento y tontería que hacíamos, gracias rey.

A dos grandes amigos talleristas **Efraín** e **Isaac** (Bobby 2) que son unas personas, compañeros y amigos increíbles.

A mis compañeros de laboratorio: **Ángeles, Caro, Josué, Augusto, Alejandrina** y **Andrea**, gracias chicos.

Y gracias a todas y cada una de las personas que estuvieron a lo largo de esta etapa de mi vida y que hoy concluyó con mucho éxito.

ÍNDICE DE CONTENIDO

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. INFLAMACIÓN	5
<i>III.1 Etapas del proceso inflamatorio.....</i>	<i>7</i>
<i>III.2 Inflamación aguda</i>	<i>10</i>
<i>III.3 Inflamación crónica.....</i>	<i>11</i>
<i>III.4 Mediadores de la inflamación</i>	<i>12</i>
<i>III.4.1 Propiedades de los mediadores de la inflamación.....</i>	<i>12</i>
<i>III.4.2 Mediadores celulares.....</i>	<i>13</i>
<i>III.4.3 Mediadores químicos.....</i>	<i>18</i>
<i>III.5 Tratamiento para la inflamación.....</i>	<i>25</i>
<i>III.6 Antiinflamatorios esteroideos.....</i>	<i>25</i>
<i>III.6.1 Mecanismo de acción de los glucocorticoides.....</i>	<i>26</i>
<i>III.7 Antiinflamatorios no esteroideos.....</i>	<i>27</i>
<i>III.7.1 Mecanismo de acción de los AINE´s.....</i>	<i>27</i>
<i>III.8 Efectos adversos de los antiinflamatorios</i>	<i>29</i>
IV. ANTECEDENTES	32
<i>IV.1 Estudios experimentales de la actividad antiinflamatoria en especies del género Erythrina.....</i>	<i>32</i>
<i>IV.2 Modelo de edema plantar inducido con carragenina.....</i>	<i>36</i>
<i>IV.3 Migración celular</i>	<i>36</i>
V. JUSTIFICACIÓN	37
VI. HIPÓTESIS	38
VII. OBJETIVOS GENERALES	38
VIII. OBJETIVOS PARTICULARES	38
IX. MATERIALES Y MÉTODOS	39
<i>IX.1 Colecta del material vegetal.....</i>	<i>39</i>
<i>IX.2 Reactivos.....</i>	<i>39</i>
<i>IX.3 Animales.....</i>	<i>39</i>
<i>IX.4 Preparación de los extractos</i>	<i>39</i>
<i>IX.5 Edema plantar inducido con carragenina.....</i>	<i>40</i>
<i>IX.6 Migración celular</i>	<i>43</i>
<i>IX.7 Análisis estadístico</i>	<i>46</i>
X. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
<i>X.1 Material vegetal</i>	<i>47</i>
<i>X.2 Rendimiento en el proceso de obtención de los extractos</i>	<i>47</i>
<i>X.3 Edema inducido por carragenina</i>	<i>48</i>
<i>X.4 Migración celular</i>	<i>58</i>
XI. CONCLUSIONES.....	63
XII. PERSPECTIVAS	63
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
XIV. ANEXO FICHAS	73

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURAS		Pág.
Figura 1.	Visión secuencial de los fenómenos que integran la inflamación.	9
Figura 2.	Las principales manifestaciones locales de la inflamación aguda comparadas con la normalidad.	11
Figura 3.	Vías para la liberación de histamina en las reacciones inflamatorias.	19
Figura 4.	Vías para la generación de cininas en las reacciones inflamatorias.	20
Figura 5.	Mediadores de la inflamación derivados de fosfolípidos.	21
Figura 6.	Producción de prostaglandinas durante la inflamación.	22
Figura 7.	Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's).	28
Figura 8.	Inyección en aponeurosis plantar derecha (A), medición del volumen de la patas traseras en pletismómetro (B).	41
Figura 9.	Diagrama de flujo para la evaluación del efecto antiinflamatorio (Bioensayo).	42
Figura 10.	Diagrama de flujo del procedimiento realizado para la técnica de migración celular.	45
Figura 11.	Ejemplar de <i>Erythrina americana</i> Miller con número de registro indicado por el Herbario de la FES Iztacala.	47
Figura 12.	Incremento del edema (volumen μL) de la pata trasera izquierda sometida a la inyección de carragenina en función del tiempo.	49
Figura 13.	Efecto del extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de <i>E. americana</i> a la 1 h posterior a la inyección de carragenina.	52
Figura 14.	Efecto del extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de <i>E. americana</i> a la 2 h posterior a la inyección de carragenina.	54
Figura 15.	Efecto del extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de <i>E. americana</i> a la 3 h posterior a la inyección de carragenina.	55
Figura 16.	Efecto del extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de <i>E. americana</i> a la 4 h posterior a la inyección de carragenina.	56
Figura 17.	Efecto del aceite de semillas de <i>Erythrina americana</i> en tres dosis sobre la migración de neutrófilos en la cavidad peritoneal inducida por carragenina.	57
Figura 18.	Modelos para el estudio de la inflamación.	74

Figura 19.	Semillas, flores y hojas de <i>Erythrina americana</i> Miller.	77
Figura 20.	Distribución de <i>Erythrina</i> en el mundo y México.	79

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		Pág.
Cuadro 1.	Propiedades de las células cebadas y basófilos humanos.	16
Cuadro 2.	Porcentajes de inhibición de extractos de <i>E. americana</i> e Indometacina sobre el edema plantar inducido por carragenina.	50
Cuadro 3.	Porcentajes inhibitorios de la migración de neutrófilos del aceite de semillas de <i>E. americana</i> .	58

I. RESUMEN

Erythrina americana Miller es una especie vegetal perteneciente a la familia Fabaceae, es utilizada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de padecimientos asociados con la inflamación. En esta investigación se evaluó la actividad antiinflamatoria de los extractos hexánico, metanólico de inflorescencias (500 mg/kg), el liofilizado de hojas (400 mg/kg) y el aceite de semillas (2 mL) de *E. americana*, utilizando el modelo de edema plantar inducido por carragenina. También se evaluó el efecto del aceite de semillas de *E. americana* (1, 2 y 3 mL v.o) en la migración de neutrófilos a la cavidad peritoneal por la aplicación de carragenina. Los resultados evidenciaron la actividad antiinflamatoria de *E. americana* en el edema plantar inducido con carragenina. El liofilizado de hojas mostró el 43.78% inhibición del edema a la 1 h y el extracto hexánico presentó porcentajes de inhibición que oscilaron entre 11.03 - 20.94% entre las 2 - 4 h. Es importante hacer notar que 2 mL de aceite de semillas redujeron el edema de forma continua en el transcurso de las cuatro horas de evaluación y que la inhibición del edema fue máxima (41.75%) al final de este tiempo. Con relación al experimento de migración celular, la administración de 1 ó 2 mL de aceite de semillas de *E. americana* redujeron el número de neutrófilos en la cavidad peritoneal y la administración de 3 mL registró una migración de neutrófilos similar a la del antiinflamatorio dexametasona. Este estudio evidenció el potencial antiinflamatorio de *E. americana* y permite explicar su uso en la medicina tradicional mexicana para tratar algunos padecimientos relacionados al proceso inflamatorio.

II. INTRODUCCIÓN

La inflamación se define como un proceso de respuesta inmunológico de un organismo, a los daños tisulares originados por patógenos bacterianos o por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente una respuesta reparadora; un proceso que implica un gasto de energía metabólica (García, 2008). La inflamación se clasifica en aguda y crónica, dependiendo de la persistencia de la lesión, de los síntomas clínicos, y de la naturaleza de la respuesta inflamatoria. Las características esenciales de la inflamación aguda son 1) acumulación de líquido y componentes del plasma en el tejido dañado, 2) estimulación intravascular de las plaquetas y 3) presencia de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos). Por el contrario, los componentes celulares característicos de la inflamación crónica son los linfocitos, las células plasmáticas y los macrófagos (Murphy y Ward, 2006).

La respuesta inflamatoria es benéfica, sin ella, las infecciones no serían controladas, las heridas nunca cicatrizarían y los tejidos lesionados serían una fuente de lesión permanente. Sin embargo, la importancia de la inflamación radica en que en ocasiones se activa de forma inadecuada o es mal controlada y es la causa de las lesiones tisulares o de enfermedades crónicas frecuentes, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis o la fibrosis pulmonar, y también de las reacciones de hipersensibilidad que ponen en riesgo la vida frente a las picaduras de insectos, los fármacos y las toxinas (Kumar *et al.*, 2010).

En recientes años, la actividad antiinflamatoria ha despertado un gran interés científico en el área farmacológica, principalmente por la búsqueda de nuevos compuestos naturales y fitoconstituyentes útiles para la salud humana que puedan ser capaces de interferir en el mecanismo del proceso inflamatorio y prevenir la prolongación de la inflamación (Gómez *et al.*, 2011; Parimelazhagan, 2016). En la actualidad se dispone de pruebas farmacológicas que permiten estimar el potencial farmacodinámico de los productos naturales; utilizando tanto ensayos *in vitro* como modelos *in vivo* con animales (Guerrero, 2009; Villareal *et al.*, 2014).

La utilización de las plantas en el tratamiento de diversas reacciones inflamatorias, son prácticas comunes en la medicina tradicional. El interés de las sustancias antiinflamatorias de origen vegetal ha ido en aumento, ya que en algunos casos ofrecen ventajas en relación a los antiinflamatorios clásicos, como es la baja incidencia de efectos secundarios (López, 2013).

El género *Erythrina* constituye una fuente importante de especies como *E. variegata*, *E. abyssinica*, *E. indica*, *E. fusca* y *E. senegalensis*, utilizadas en la medicina tradicional de diversas regiones del mundo para el alivio de dolores, como tratamiento de infecciones urinarias, respiratorias, infecciones de los ojos, piel y garganta, para la fiebre, curar heridas y procesos inflamatorios (Pino *et al.*, 2004).

Mediante modelos *in vitro* como el ensayo de COX-1, se evidenció que los extractos etanólicos y de acetato de etilo obtenidos de corteza y hojas de cinco especies sudafricanas de *Erythrina* inhiben la acción de la enzima ciclooxigenasa, responsable de la síntesis de prostaglandinas (Pillay *et al.*, 2001). También se ha demostrado que diferentes concentraciones del extracto metanólico de raíz de *E. indica*, presentan actividad antiinflamatoria, inhibiendo la desnaturalización de albumina inducida por calor y la estabilización de la membrana; se reportó una inhibición máxima del 92,80% con la dosis de 50 µg/mL del extracto metanólico de *E. indica* (Rathisre *et al.*, 2013).

Por otro lado, empleando modelos animales como el granuloma inducido por pellet de algodón (modelo de inflamación crónica), se observó que el extracto etanólico de las hojas de *E. stricta* y *E. variegata*, redujeron la formación del tejido granulomatoso en rata mediante la reducción tanto del peso seco como del peso húmedo de los pellets de algodón (Subhashini *et al.*, 2011; Mantena y Tejaswani, 2015). Mientras que en modelos de inflamación aguda el extracto acuoso de corteza de *E. senegalensis* y el extracto etanólico de *E. stricta* inhibieron la formación del edema plantar inducido con albumina de huevo y formalina respectivamente (Saidu *et al.*, 2000, Subhashini *et al.*, 2011). En el edema plantar inducido por carragenina; extractos de hojas de *E. crista-galli* (diclorometánico), *E. stricta* (etanólico) y *E. variegata* (etanólico) mostraron una reducción máxima del edema a las 3 h de la inyección del agente irritante (Miño *et al.*, 2002; Subhashini *et al.*, 2011; Mantena y Tejaswani, 2015); lo que sugiere que los extractos presentan efecto sobre la síntesis de prostaglandinas, las cuales actúan durante la fase tardía (3-4 h) del edema plantar inducido por carragenina (Giráldez, 2001 en Báez, 2007). En cuanto a la migración celular, proceso importante que surge cuando un tejido sufre una agresión (Murphy y Ward, 2006), se ha reportado que extractos y fracciones de *E. mulungu* reducen la migración celular en el modelo de peritonitis inducida por Zymosan, mismo que se caracteriza por promover la desgranulación de mastocitos y la activación de macrófagos mediante el agente irritante (De Oliveira *et al.*, 2011).

El efecto antiinflamatorio de los extractos de diversas especies de *Erythrina*, se ha asociado a la presencia de flavonoides, existen evidencias científicas del efecto antiinflamatorio del pterocarpano erycristagalina (isoflavonoide) aislado de *E. mildbraedii* inhibiendo la formación del edema plantar inducido por fosfolipasa A₂ (Njamen *et al.*, 2003) y las flavanonas Sigmoidin A y Sigmoidin B de *E. sigmoidea* inhibieron el edema plantar inducido por fosfolipasa A₂ y el edema auricular generado con TPA (Njamen *et al.*, 2004). Por otro lado, el flavonoide prenilado Abyssinona V-4´metil éter, aislado de *E. droogmansiana* inhibió de forma dosis dependiente la formación del edema plantar promovido con carragenina (Sokeng *et al.*, 2013).

En México el género *Erythrina* se distribuye ampliamente localizándose en los estados de Oaxaca, Veracruz, Guerrero, Puebla, Morelos, San Luis Potosí, Michoacán, Distrito Federal. En la medicina tradicional mexicana diversas especies de *Erythrina* son utilizadas en el tratamiento de padecimientos asociados a la inflamación, tales como el dolor de muelas, afecciones de los riñones, abscesos, úlceras, picaduras de insectos o inflamaciones de los ojos (Amo en Hastings, 1990; Biblioteca Digital Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). A pesar de este uso empírico, hasta el momento de la revisión, en el país no hay reportes de actividad antiinflamatoria con especies de este género. Específicamente, *Erythrina americana* en los estados de Guerrero Michoacán Morelos y Puebla se usa para atender el dolor de muelas, afecciones de los riñones y mal de orín (Biblioteca Digital Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Con base en lo anterior, esta investigación se diseñó con la finalidad de obtener información preliminar sobre el potencial antiinflamatorio de *E. americana*, por lo que esta tesis tuvo los siguientes objetivos: 1) Evaluar la actividad antiinflamatoria de *Erythrina americana* Miller usando el modelo de edema plantar inducido por carragenina y 2) Evaluar el efecto del aceite de semillas de *E. americana* Miller en la reducción de la migración de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos).

III. INFLAMACIÓN

Desde la antigüedad el hombre ha buscado alternativas para atenuar el sufrimiento, preservar la salud y mantener la vida. Se considera que el dolor, la fiebre y la inflamación, constituyen síntomas de algunas enfermedades; lo que ha propiciado la búsqueda sistematizada de sustancias que sean capaces de aliviar o atenuar estas poderosas manifestaciones de alarma con que cuenta el organismo y que nos anuncian la existencia de alguna alteración fisiológica (Mendoza, 2008).

Específicamente la inflamación constituye un mecanismo de defensa que pone en marcha el organismo cuando existe una agresión tisular. Su finalidad es, en primer lugar detener la agresión y, en segundo término, repararla. Se trata por tanto, de un fenómeno básicamente local. El aspecto central de la reacción inflamatoria es la destrucción del agente agresor y del tejido dañado. Ello se lleva a cabo gracias a un conjunto de células y de sustancias denominadas, respectivamente, mediadores celulares y mediadores químicos de la inflamación (González y Fariñas, 2004). En la inflamación hay una respuesta innata y en determinados casos la inmunidad específica. La respuesta inmune innata como siempre inicia la respuesta generando señales o mensajes de peligro que permitan guiar a la respuesta inmune específica posterior. Las células efectoras del sistema inmune innato, fagocitos y neutrófilos tienen una función principal en la terminación de la inflamación (Puente, 2005).

La respuesta inflamatoria inmediata a las lesiones tisulares consiste en un conjunto complejo de ajustes fisiológicos y anatómicos. Participan en ella diversos componentes corporales: vasos sanguíneos, líquido intercelular mezclado con partes de células lesionadas, lo que se llama exudado; los componentes celulares de la sangre, y los tejidos epitelial y conectivo adyacentes. Otros factores que afectan la respuesta inflamatoria son la edad y el estado general de salud del individuo. Los procesos de curación y cicatrización de cualquier tipo requieren una demanda considerable de reservas de nutrimentos del organismo, de modo que la nutrición desempeña también una función esencial. Es usual que la inflamación se caracterice por cuatro síntomas fundamentales: enrojecimiento, dolor, calor e hinchazón;

además de la pérdida de la función del área lesionada, que depende del sitio y la magnitud de la lesión (Tortora y Anagnostakos, 1989).

Al inicio de la inflamación, participan componentes del complemento de la coagulación que son las anafilotoxinas (C3a, C4a, C5a), opsoninas (C3b, iC3b) y moléculas proinflamatorias (MAC, C5a), cuya función principal es la defensa contra los microbios (Murphy y Ward, 2006); también participan aminas vasoactivas, lípidos eicosanoides, quimioattractantes, metabolitos reactivos del oxígeno y del nitrógeno, citoquinas proinflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α) e Interleucina 1 β (IL-1 β), entre muchos otros. Para contrarrestar lo anterior, se producen mediadores antiinflamatorios como aminas vasoactivas (adrenalina, noradrenalina), hormonas (glucocorticoides), citoquinas antiinflamatorias (IL-10, TGF- β) y lípidos (lipoxinas y ciclopentanona-prostaglandinas). Las células participantes, que son a su vez la principal fuente de los mediadores mencionados, son las células endoteliales, mastocitos, neutrófilos y monocitos (sistema inmune innato) y linfocitos (sistema inmune específico). Estas células experimentan también importantes cambios fenotípicos, especialmente en su superficie celular (expresión de moléculas de adhesión, cambios en la afinidad de las moléculas de adhesión), que le permiten cambiar sus propiedades de reconocimiento de otras células, haciéndolas en general más adhesivas (Puente, 2005).

Aunque la inflamación ayuda a eliminar las infecciones y otros estímulos nocivos y da comienzo a la reparación, la reacción inflamatoria y el posterior proceso reparador pueden causar un daño considerable. Los componentes de la reacción inflamatoria que destruyen y eliminan los microbios y los tejidos muertos son capaces de lesionar también los tejidos normales. Por consiguiente, la prolongación de este proceso, puede contribuir a la patogénesis de diversas enfermedades, tales como artritis reumatoide, bronquitis crónica, enfisema pulmonar, asma y glomerulonefritis (Puente, 2005). En el 2008 el Sistema Nacional de Información de la Salud registro en nuestro país un total de 1, 144,512 egresos hospitalarios por enfermedades relacionadas con algún tipo de inflamación. Los padecimientos más frecuentes son úlceras, cirrosis apendicitis, nefritis, nefrosis y artritis.

III.1 Etapas del proceso inflamatorio

La respuesta inflamatoria se inicia con la dilatación de los capilares y arteriolas locales esto se conoce como vasodilatación, lo que permite un mayor flujo de sangre al área de la lesión; el aumento en el riego sanguíneo también sirve para eliminar los productos tóxicos y células muertas con lo que se evita la complicación de la lesión. La vasodilatación es provocada por numerosos mediadores químicos producidos por las células del tejido circundante, entre ellos: la histamina, ciertas prostaglandinas (PGE₂, PGI₂, PGE₁) y el Factor Activador de Plaquetas (Guyton, 1989). Otro fenómeno que ocurre en la respuesta inflamatoria es el aumento en la permeabilidad, esto significa que pueden atravesar la pared de los vasos sanguíneos las sustancias que normalmente se retienen en la sangre como los leucocitos y los factores químicos que forman el coágulo evitando que los gérmenes y toxinas de los microorganismos invasores se diseminen a otras partes del cuerpo. Por lo general, en la hora subsecuente al inicio de la inflamación los fagocitos (micrófagos y macrófagos) llegan al área de la lesión (migración de fagocitos). Al disminuir el flujo de sangre, los micrófagos (neutrófilos) empiezan a adherirse a la superficie interna del endotelio que reviste a los vasos sanguíneos, proceso denominado marginación. Después, los neutrófilos atraviesan la pared de los vasos para llegar al área de la lesión, mediante el movimiento denominado diapédesis y en ocasiones requiere apenas de dos minutos. El movimiento de los neutrófilos depende de la quimiotaxia, es decir la atracción que ejercen ciertos factores o sustancias químicas sobre los neutrófilos. Entre tales factores se incluyen los microorganismos, cininas y otros neutrófilos. El flujo constante de éstos hacia el área lesionada depende de su producción y liberación en la médula ósea, lo que a su vez es resultado de la sustancia denominada factor de fomento de la leucocitosis, que liberan los tejidos inflamados. Los neutrófilos intentan la destrucción de los microorganismos invasores por fagocitosis, además de que contienen sustancias químicas con actividad antibiótica, las defensinas, que reciben tal nombre por la aparente función de prevenir y contrarrestar infecciones. Al continuar la respuesta inflamatoria los monocitos también se dirigen al área infectada. Una vez en ella, se transforman en macrófagos errantes que intensifican la actividad fagocítica de los macrófagos fijos.

Además, éstos últimos se movilizan como resultado de la inflamación y, al igual que los macrófagos errantes emigran hacia el área infectada. Los neutrófilos predominan en las etapas iniciales de la infección, pero después tienden a disminuir rápidamente en número, punto en que entran en acción los macrófagos, cuya actividad fagocítica es varias veces mayor que la de los neutrófilos y que tienen tamaño suficiente para engullir el tejido necrótico, los neutrófilos muertos y los microbios invasores (Tortora y Anagnostakos, 1989).

Tanto sustancias exógenas como endógenas pueden ser quimiotácticas para los leucocitos, como son: 1) productos bacterianos; 2) citocinas, especialmente las de la familia quimiocinas; 3) componentes del sistema del complemento, sobre todo C5a, y 4) productos de la vía metabólica de la lipoxigenasa del ácido araquidónico (AA), sobre todo leucotrieno B₄ (LTB₄). Estos mediadores se producen en respuesta a infecciones y daño tisular y durante reacciones inmunológicas. La infiltración leucocitaria en todas estas situaciones es consecuencia de las acciones de diversas combinaciones de mediadores (Kumar *et al.*, 2010). Tras llegar al foco (lo que da lugar al infiltrado leucocitario), los leucocitos desarrollan su función defensiva, que se establece fundamentalmente gracias a la fagocitosis y a la producción de sustancias con capacidad destructora (González y Fariñas, 2004).

El proceso de fagocitosis consta de tres pasos diferentes: a) reconocimiento, que se basa en la opsonización, la que a su vez consiste en el recubrimiento de la partícula por algunas proteínas séricas, o la fijación a la membrana celular del fagocito de anticuerpos específicos dirigidos contra determinantes antigénicos propios de la partícula; b) endocitosis, lo que incluye la emisión de dos pseudópodos que rodean a la partícula y se fusionan entre sí, con lo que queda englobada en una vesícula citoplásmica limitada por la membrana plasmática interiorizada (fagosoma), la movilización de los lisosomas hasta que establecen contacto con el fagosoma, la fusión de las membranas de los dos organelos con el derrame del contenido de los lisosomas en el interior del fagosoma, y la consecuente desgranulación de la célula, que es más aparente en los leucocitos polimorfonucleares; c) resultado final, que puede ser digestión parcial o completa de la partícula ingerida, incapacidad para

digerirla y entonces, si la partícula no es tóxica o agresiva de algún otro modo para el fagocito, se conserva en el citoplasma, muerte del fagocito, o (raras veces) expulsión de la partícula al exterior. La degradación del material ingerido es de gran importancia en las enfermedades infecciosas producidas por bacterias, hongos y algunos parásitos (Pérez, 2007). En la **Figura 1** se presenta la secuencia de eventos implicados en el proceso inflamatorio (González y Fariñas, 2004).

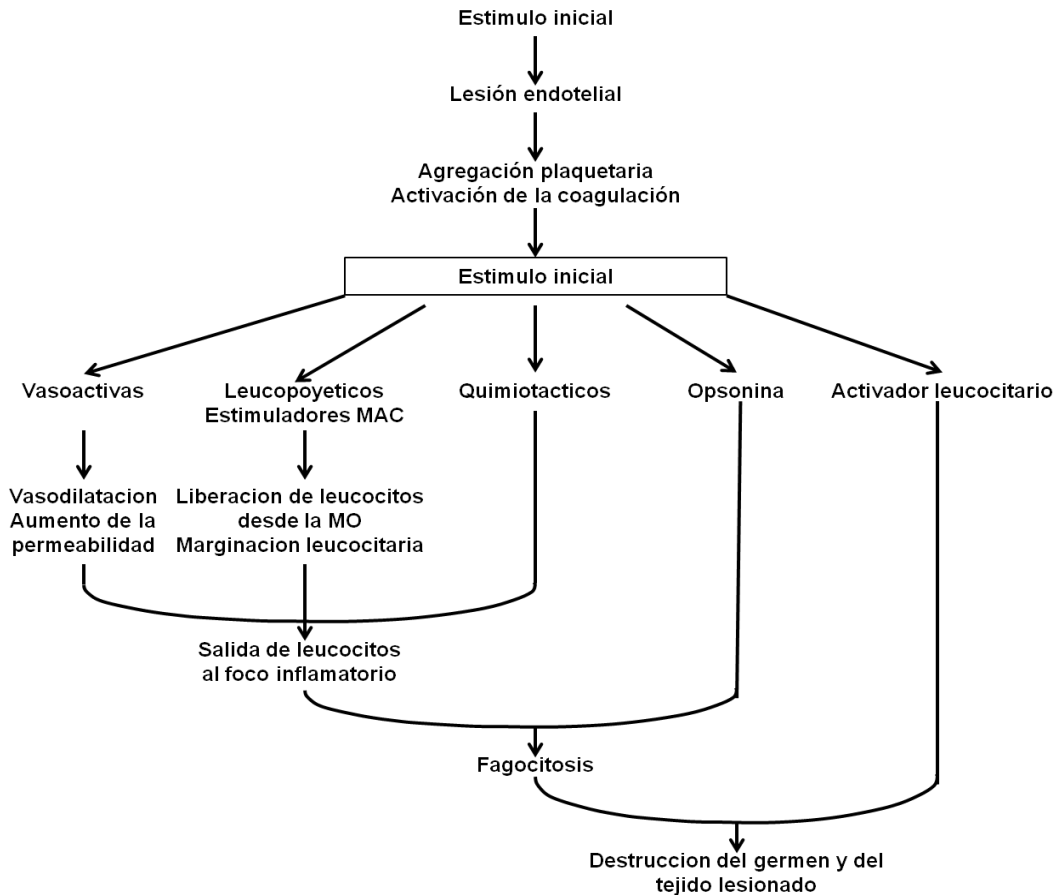


Figura 1. Visión secuencial de los fenómenos que integran la inflamación (MAC= moléculas de adhesión celular; MO= médula ósea) (Tomado de González y Fariñas, 2004).

La etapa final del proceso inflamatorio es la reparación de los tejidos; los fibroblastos del área se dividen rápidamente, y empiezan a secretar grandes cantidades de colágeno, el cual dota el área de gran fuerza de tensión. El resultado final puede ser la reparación completa (con o sin cicatriz), la formación de absceso, o

la formación de granuloma. Un absceso es básicamente un saco de pus circundado de fibroblastos y colágeno (Vander *et al.*, 1978).

La formación de pus continúa hasta que toda la infección ha sido dominada. A veces la cavidad purulenta se abre paso hacia la superficie del cuerpo, o bien hacia una cavidad interna, y en esta forma se vacía espontáneamente. Otras veces la cavidad purulenta sigue cerrada incluso después que ha cesado la destrucción de tejido. Cuando esto ocurre las células muertas y el tejido necrótico del pus gradualmente sufren autólisis durante días; los productos finales de tal autólisis son absorbidos por los tejidos vecinos hasta que desaparecen casi todos los signos de lesión tisular (Guyton, 1989). La restauración esta también sometida a mecanismos de control. Se cuentan entre ellos las chalonas que son producidas por las células maduras de una determinada línea celular para evitar la proliferación excesiva de las células de esa misma línea, el factor regulador del crecimiento de los fibroblastos, etc. (González y Fariñas, 2004).

Dependiendo de las características temporales de la inflamación definimos dos tipos de respuesta: *inflamación aguda* e *inflamación crónica*.

III.2 Inflamación aguda

La inflamación aguda es de duración, en cierta forma breve, y persiste desde unos cuantos minutos hasta varios días, y se caracteriza por exudación de líquido y proteínas del plasma y por acumulación de leucocitos predominantemente neutrófilos: por lo que se dice que es la respuesta inicial e inmediata a la lesión. Una función de dicha respuesta es suministrar leucocitos en el sitio lesionado, donde pueden ayudar a depurar las bacterias invasoras (u otros agentes invasores) y también a descomponer los tejidos necrosados resultantes del daño. Infortunadamente, los leucocitos en si pueden prolongar la inflamación e inducir daño tisular mediante liberación de enzimas, mediadores químicos y radicales tóxicos de oxígeno. La inflamación aguda tiene tres componentes principales: 1) alteraciones en el calibre de los vasos que producen un incremento local del riego sanguíneo (vasodilatación); 2) cambios estructurales en la microvasculatura que permiten a las

proteínas plasmáticas y los leucocitos abandonen la circulación y 3) migración de los leucocitos desde la microcirculación, acumulación en el foco de lesión y su activación para eliminar el agente ofensor (**Figura 2**). Estos componentes explican tres de los cinco signos locales clásicos de la inflamación aguda: calor, enrojecimiento (rubor) e inflamación (tumor), los otros dos rasgos, dolor y pérdida de la función ocurren como consecuencias adicionales de la elaboración de mediadores y de la emigración de leucocitos en la respuesta inflamatoria (Mitchell y Cotran, 1999).

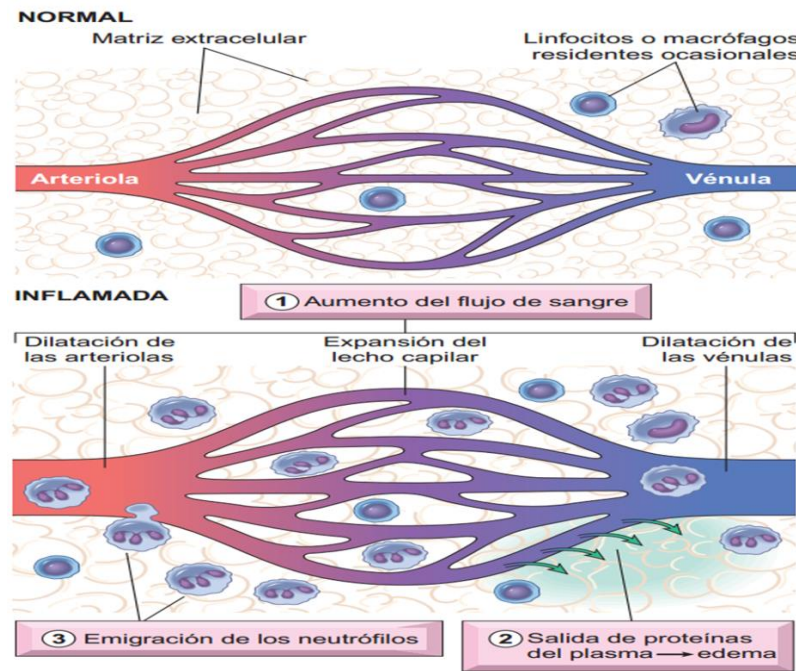


Figura 2. Principales manifestaciones locales de la inflamación aguda comparadas con la normalidad (Tomado de Kumar *et al.*, 2010)

III.3 Inflamación crónica

La incapacidad para eliminar la agresión patológica o para poner en marcha la resolución, se traduce en la persistencia de la reacción inflamatoria, lo que puede manifestarse como una respuesta aguda prolongada, con la llegada continua de neutrófilos y destrucción del tejido, o lo que es más frecuente, con una inflamación crónica (Murphy y Ward, 2006). Este tipo de inflamación de duración prolongada (semanas o meses, o años) se caracteriza por: 1) infiltración con células mononucleares (“inflamatorias crónicas”), incluyendo macrófagos, linfocitos y células

plasmáticas; 2) destrucción de tejidos, inducida principalmente por células inflamatorias y 3) reparación que implica la proliferación de vasos nuevos (angiogénesis) y fibrosis (Mitchell y Cotran, 1999).

Una diferencia entre la inflamación aguda y la crónica es su resultado: en la inflamación aguda, las lesiones celulares y tisulares son causadas por el agente extraño con participación mínima de los efectores endógenos dispuestos para su eliminación; mientras que en la crónica, las células se acumulan en el tejido y provocan distintos tipos de lesión, por lo común no relacionados con la protección del organismo o fuera de proporción con las alteraciones que produciría el agente causal en ausencia de la inflamación. En muchas enfermedades la inflamación crónica es el verdadero mecanismo patógeno y la terapéutica se dirige a reducir o eliminar el proceso (Pérez, 2007).

III.4 Medidores de la inflamación

Las reacciones inmediatas o de fase aguda que siguen a la agresión y que pretenden la restauración de la homeostasis constituyen el fenómeno inflamatorio. Estas reacciones se inician en el lugar de la agresión y determinan, mediante mediadores celulares y químicos, una respuesta generalizada (Waxman, 1996 citado en García de Lorenzo *et al.*, 2000).

III.4.1 Propiedades de los mediadores de la inflamación

Algunas de las propiedades comunes de los mediadores y principios generales de su producción y acciones descritas en Mitchell y Cotran (1999) se presentan a continuación:

- Los mediadores se derivan del plasma o a veces algunas células los producen de manera local. Los mediadores derivados del plasma (complemento, cininas, factores de coagulación) se presentan como precursores circulantes que deben ser activados, en forma habitual por desdoblamiento proteolítico, para adquirir sus propiedades biológicas. Los mediadores derivados de células por lo normal se encuentran encerrados en gránulos intracelulares (p. ej., histamina en las células cebadas) que subsecuentemente serán

secretados, o pueden ser sintetizados *de novo* (p. ej., prostaglandinas) en respuesta a un estímulo.

- La mayor parte de ellos desempeña su actividad biológica uniéndose inicialmente a receptores específicos o células “blanco”. Sin embargo, algunos tienen actividad enzimática directa, tóxica o ambas.
- Pueden estimular células blanco para que liberen moléculas efectoras secundarias. Estos mediadores secundarios a veces muestran actividad similar a la molécula efectora inicial, en este caso amplificarán una respuesta particular. Por otro lado, pueden tener actividad opositora y por lo tanto funcionan como contrarreguladores del estímulo inicial.
- Sólo pueden actuar sobre una o unas cuantas células blanco, o pueden presentar actividad ampliamente extendida, y pueden mostrar resultados muy diferentes según el tipo de célula que afecten.
- La función de un mediador por lo general está estrictamente regulada. Una vez activados y liberados de la célula, casi todos los mediadores se desactivan con rapidez (p. ej., metabolitos del ácido araquidónico), son inactivados por enzimas (p. ej., cininasa inactiva a la bradicinina), o son eliminados.
- Una de las principales razones de los controles y equilibrios es que casi todos los mediadores tienen posibilidad de provocar efectos nocivos.

III.4.2 Mediadores celulares

Las estrategias de defensa que son, con mucho, las más complejas, dinámicas y eficaces, son realizadas por células que se desplazan a través del cuerpo para buscar y destruir microorganismos y otras sustancias extrañas. En los seres humanos, hay tres grupos principales de células que proporcionan este tipo de defensa. Dos de éstas, los neutrófilos y la serie de los monocitos-macrófagos, son células fagocíticas, que actúan principalmente englobando y digiriendo bacterias, desechos celulares y otras partículas de materia. El tercer grupo, que constituye a los

linfocitos, y sus elementos relacionados, tiene poca capacidad fagocítica pero, en vez de esto, participa en número considerable de otras reacciones de protección que se conocen colectivamente como respuestas inmunitarias (Parslow, 1996). Otros dos grupos celulares que participan son los eosinófilos, y los basófilos.

Aunque se atribuyen funciones específicas a cada uno de estos tipos celulares, en realidad estas funciones se superponen y varían según las fases de la inflamación. Además, las células locales de cada tejido interactúan entre ellas y con las células inflamatorias para producir una respuesta continua a la lesión y a la infección (Murphy y Ward, 2006).

❖ Neutrófilos

Los neutrófilos polimorfonucleares, o PMN (por sus siglas en inglés), son las células clave de la inflamación aguda. Poseen gránulos citoplásmicos y un núcleo con dos o cuatro lóbulos (Murphy y Ward, 2006). Los neutrófilos son los primeros fagocitos que acuden al foco inflamatorio. Desarrollan una fagocitosis de alcance limitado (bacterias, inmunocomplejos), en la que no colabora el sistema inmunitario celular. A diferencia de los monocitos, no tiene capacidad para reproducirse no para volver a sintetizar sus enzimas una vez utilizadas, por lo que, una vez que se liberan éstas, pierden su función y mueren en el foco inflamatorio (González y Fariñas, 2004). Se activan en respuesta a los estímulos fagocitarios, las citocinas, los mediadores quimiotácticos y los complejos antígeno-anticuerpo que se unen a receptores específicos de sus membranas celulares. En los tejidos, los PMN fagocitan a los microbios invasores y el tejido muerto. Una vez acumulados en el tejido, no regresan a la circulación (Murphy y Ward, 2006).

❖ Monocitos/macrófagos

Los monocitos circulantes tienen núcleos con un solo lóbulo o con forma arriñonada. Proceden de la médula ósea y pueden salir de la circulación para emigrar a los tejidos y convertirse en macrófagos residentes (Murphy y Ward, 2006). Los monocitos y los macrófagos desarrollan funciones fagocitarias más complejas, en las que con frecuencia intervienen los linfocitos T y son indispensables para la

eliminación de restos tisulares y para la muerte de gérmenes intracelulares y se encuentran las inflamaciones crónicas en las que pueden revestir diversas formas: células epiteloides, células multinucleadas gigantes, etc. (González y Fariñas, 2004). Los monocitos/macrófagos producen potentes sustancias vasoactivas, entre ellas las derivadas del metabolismo del ácido araquidónico (prostaglandinas, leucotrienos), factor activador de plaquetas PAF (por sus siglas en inglés) y citocinas inflamatorias. Los macrófagos son especialmente importantes en el mantenimiento de la inflamación crónica (Murphy y Ward, 2006).

❖ Eosinófilos

Los eosinófilos circulan en la sangre y son atraídos hacia los tejidos de forma similar a los PMN. Estas células contienen leucotrienos y PAF, fosfatasa ácida y peroxidasa. Expresan receptores para Inmunoglobulina A (IgA) y poseen grandes gránulos con proteína básica principal eosinófila que participa en la defensa contra los parásitos (Murphy y Ward, 2006). Están también implicados en las reacciones inflamatorias alérgicas. (González y Fariñas, 2004;). Los eosinófilos realizan la fagocitosis de una manera más lenta y más selectiva que los neutrófilos. Es más probable que los eosinófilos fagociten complejos antígeno-anticuerpo, y el recuento de estas células tiende a aumentar en las reacciones alérgicas, en algunas infestaciones parasitarias y en ciertas neoplasias y enfermedades autoinmunitarias (Vick, 1987).

❖ Basófilos y mastocitos

Los mastocitos, o células cebadas y los basófilos son células granulosas con distintas propiedades (**Cuadro 1**) y contienen receptores para IgE en su superficie. Cuando los mastocitos o los basófilos sensibilizados a la IgE reciben un estímulo antigénico, secretan hacia el espacio extracelular los mediadores inflamatorios que poseen en sus densos gránulos citoplásmicos. Los gránulos contienen mucopolisacáridos ácidos (entre ellos heparina), serina proteasas, sustancias quimiotácticas para los neutrófilos y eosinófilos e histamina. La estimulación de los mastocitos y los basófilos conduce también a la liberación de productos del

metabolismo del ácido araquidónico como los leucotrienos: LTC₄, LTD₄ y LTE₄, y citocinas como TNF- α e IL-4. Los productos de los mastocitos son importantes para la regulación de la permeabilidad vascular (Murphy y Ward, 2006).

	Células cebadas	Basófilos
Diámetro de la célula	5 a 7 μ m	10 a 15 μ m
Núcleo	Bilobulado o multilobulado	Redondo u oval; excéntrico
Contorno de la superficie celular	Lisa con prolongaciones anchas, cortas ocasionales	Múltiples prolongaciones estrechas
Localización predominante	Tejidos conjuntivos	Sangre
Periodo de vida	Semanas o meses	Días
Terminalmente diferenciada	No	Sí
Contenido principal de gránulos	Histamina, sulfato de condroitina, proteasas neutras, heparina, TNF- α	Histamina, sulfato de condroitina, proteasas neutras, proteína básica mayor, proteínas de Charcot-Leyden
Mediadores que son sintetizados y liberados después de la desgranulación	TNF- α , PAF, LTC ₄ , PGD ₂	LTC ₄

Cuadro 1. Propiedades de de las células cebadas y los basófilos humanos (Tomado de Terr, 1996).

❖ Linfocitos

Los linfocitos son movilizados al escenario de cualquier estímulo inmunitario específico (p. ej. infecciones) así como de inflamación no mediada por inmunidad (p. ej. debido a infarto o traumatismo tisular). Tanto los linfocitos T como B migran a los sitios inflamatorios utilizando algunas de las mismas moléculas de adhesión y quimioquinas que reclutan otros leucocitos. Los linfocitos y los macrófagos interactúan de modo bidireccional, y estas interacciones desempeñan una función importante en la inflamación crónica. Los macrófagos muestran antígenos a las células T, expresan moléculas de membrana y producen citocinas (sobre todo IL-12) que estimulan las respuestas de las células T. Los linfocitos T activados, a su vez, producen citocinas, y una de éstas, el IFN- γ , es un poderoso activador de los macrófagos,

promocionando más presentación de antígenos y secreción de citocinas. El resultado es un ciclo de reacciones celulares que alimentan y mantienen la inflamación crónica (Kumar *et al.*, 2010).

❖ Células endoteliales

Las células endoteliales son células aplanadas que forman una monocapa que reviste los vasos sanguíneos y aunque no se clasifican como células inflamatorias intervienen de forma pasiva y también activa. La célula endotelial a) determina un aumento de permeabilidad, al modificar su citoesqueleto como respuesta a diversos agentes, de forma que se retrae apareciendo espacios entre las células vecinas; b) contribuye al desarrollo de vasodilatación, al desviar en tal sentido el equilibrio entre los factores vasodilatadores (PGI₂, NO) y vasoconstrictores (endotelina, PAF) que produce; c) expresa moléculas de adhesión celular, para facilitar la fijación de los leucocitos y d) altera el sistema hemostático local (disminución de trombomodulina y del activador tisular del plasminógeno). La mayor parte de estos fenómenos son inducidos por citocinas (IL-1, TNF), aun cuando intervienen además otros mediadores de la inflamación. Las células endoteliales también están implicadas en la fase reparativa de la inflamación, en la que proliferan, formando cordones de células que acaban constituyendo los vasos de la zona reparada al aparecer la luz en su interior (Murphy y Ward, 2006; González y Fariñas, 2004).

❖ Fibroblastos

En la fase reparativa aparecen en el foco inflamatorio diversas sustancias quimiotácticas para los fibroblastos, así como otras sustancias que estimulan su proliferación y actividad. Los fibroblastos regeneran la matriz extracelular, sintetizando tanto proteínas fibrilares (colágeno, elastina, reticulina) como sustancia amorfa (compuesta por glicoproteínas y proteoglicanos) (González y Fariñas, 2004).

❖ Plaquetas

Aunque no son propiamente células, se incluyen aquí porque desempeñan un papel de gran trascendencia, desempeñan una función primordial en la homeostasis

normal y en el inicio y regulación de la formación del coágulo. Son pequeñas (2 μm de diámetro), carecen de núcleo, y contiene tres tipos distintos de inclusiones: 1) gránulos densos ricos en serotonina, histamina, calcio y difosfato de adenosina (ADP), 2) gránulos α que contienen fibrinógeno, proteínas de la coagulación, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP) y otros péptidos y proteínas y 3) lisosomas con hidrolasas ácidas (Murphy y Ward, 2006). Con la lesión tisular producida por el agente nocivo iniciador de la inflamación, se lesiona el endotelio. Como consecuencia de ello, las plaquetas se adhieren a él. El proceso va seguido de agregación plaquetaria. La activación de las plaquetas da lugar a la aparición de factores vasoactivos (histamina y derivados del ácido araquidónico) y quimiotácticos (C5a, por liberación de proteasas que actúan sobre el complemento). Con ello se pone en marcha la atracción de leucocitos (González y Fariñas, 2004).

III.4.3 Mediadores químicos

❖ Aminas vasoactivas

Las dos aminas vasoactivas, histamina y serotonina, se almacenan como moléculas preformadas en las células cebadas y otras células y se encuentran entre los primeros mediadores que se liberan en las reacciones inflamatorias agudas.

➤ Histamina

Se halla presente en muchos tejidos del cuerpo pero tiene especial concentración en los mastocitos, basófilos circulantes y plaquetas. Su liberación es inducida por una gran variedad de factores (**Figura 3**). En una respuesta inflamatoria en la que no se encuentran respuestas inmunológicas específicas, dos de los factores principales son el simple rompimiento mecánico de las células que contienen histamina, y las sustancias químicas que, secretadas por los neutrófilos, son atraídos al sitio (Vander *et al.*, 1978).

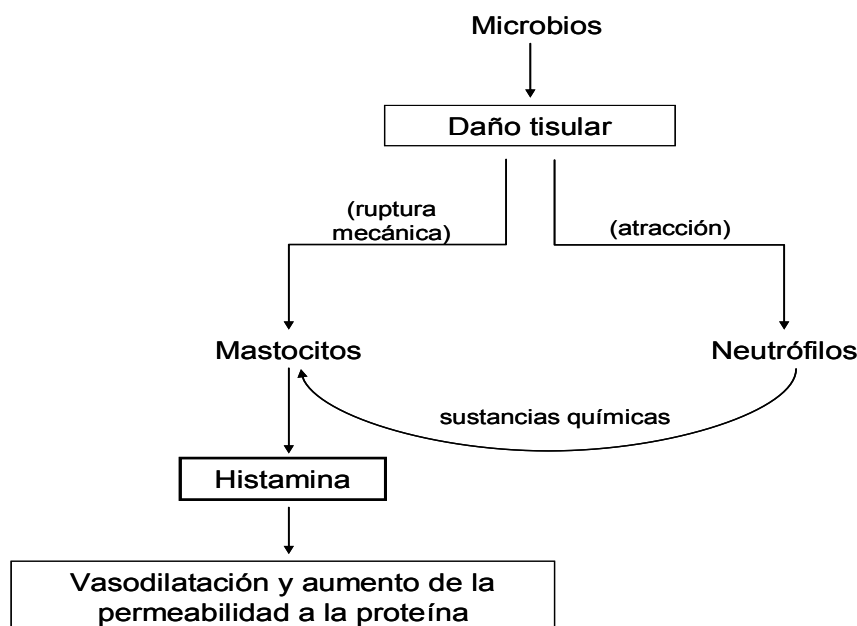


Figura 3. Vías para la liberación de histamina en las reacciones inflamatorias (Tomado de Vander *et al.*, 1978).

Inhíbe la respuesta quimiotáctica de neutrófilos y basófilos, estimula la quimotaxis de eosinófilos y acelera la liberación de enzimas lisosómicas de neutrófilos. Intervienen con más seguridad en la inflamación cuando se desarrolla hipersensibilidad debido a la descarga de gránulos de las células cebadas, pero al parecer la histamina también se encuentra en exudados (Shires, 1991).

➤ Serotonina

La serotonina (5-hidroxitriptamina) es también un mediador vasoactivo preformado, con efectos similares a los de la histamina. Se encuentra, principalmente, en el interior de los gránulos de cuerpos densos plaquetarios (junto con histamina, adenosina bifosfato y calcio) y es liberada durante la agregación plaquetaria (Kumar *et al.*, 2010).

❖ Cinas

La orina, el plasma, la saliva y diversos tejidos contienen una enzima, la calicreína, ésta actúa sobre una globulina plasmática llamada cininógeno, y produce un polipéptido, la *bradicinina*. Esta sustancia es parte de un grupo de péptidos similares denominados cininas que inducen la aparición del dolor, aumentan la

permeabilidad capilar y dilatan a las arteriolas. El sistema de las cininas participa en la respuesta inflamatoria cuando lo activa la liberación de calicreína por los tejidos lesionados y por la actividad de calicreína de las enzimas lisosómicas liberadas a partir de las células y de los fagocitos (**Figura 4**). Las cininas contribuyen a la inflamación aumentando la permeabilidad de los capilares y produciendo vasodilatación. Además, estas sustancias poseen acción quimiotáctica para los leucocitos (Vick, 1987).

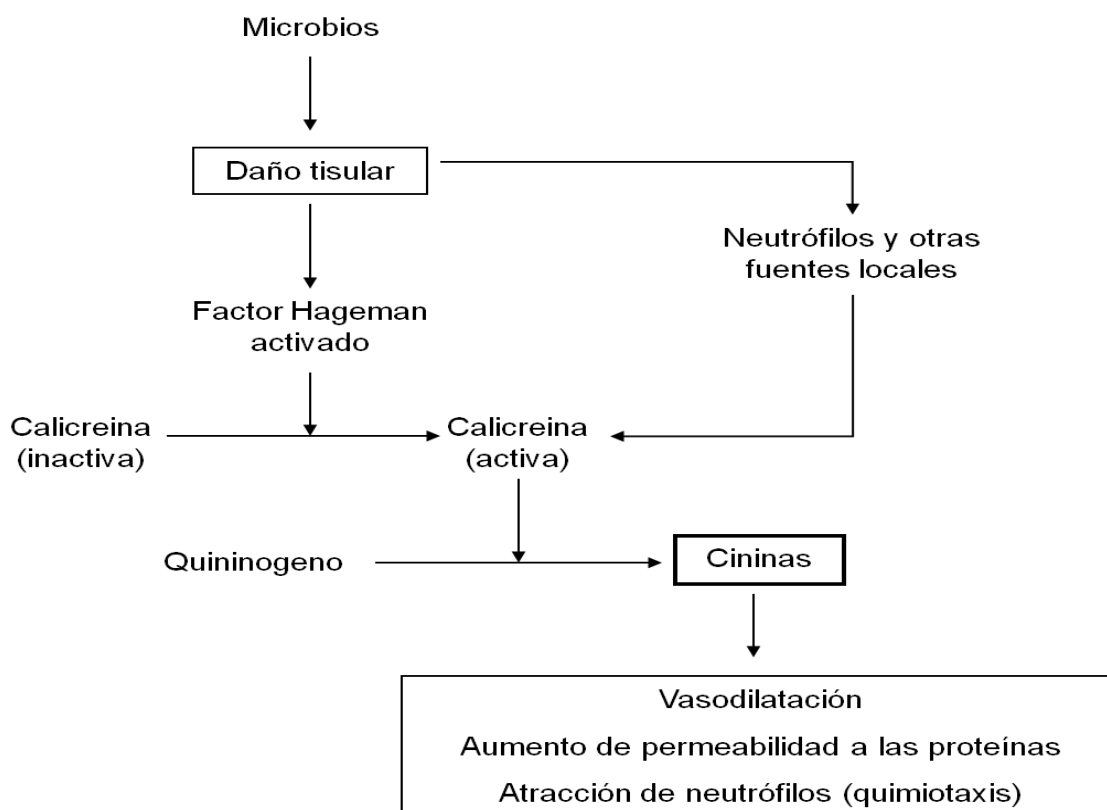


Figura 4. Vías para la generación de cininas en las reacciones inflamatorias (Tomado de Vander *et al.*, 1978).

❖ Eicosanoides

Otro importante conjunto de mediadores son los eicosanoides, una clase de lípidos derivados del ácido araquidónico: prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos (el término prostanoide se utiliza para referirse conjuntamente a las prostaglandinas y los tromboxanos). Derivan del metabolismo

del ácido araquidónico a través de vías catalizadas por enzimas del ácido araquidónico a través de vías catalizadas por enzimas como ciclooxigenasas (COX) o lipooxigenasas.

Existe un derivado adicional del ácido araquidónico, el factor activador plaquetario (PAF), con una potente acción relajadora vascular (**Figura 5**). El nivel de eicosanoides en un tejido inflamado es muy bajo, aumentando considerablemente en la medida que ocurre la adhesión y transmigración endotelial leucocitaria en la inflamación aguda.

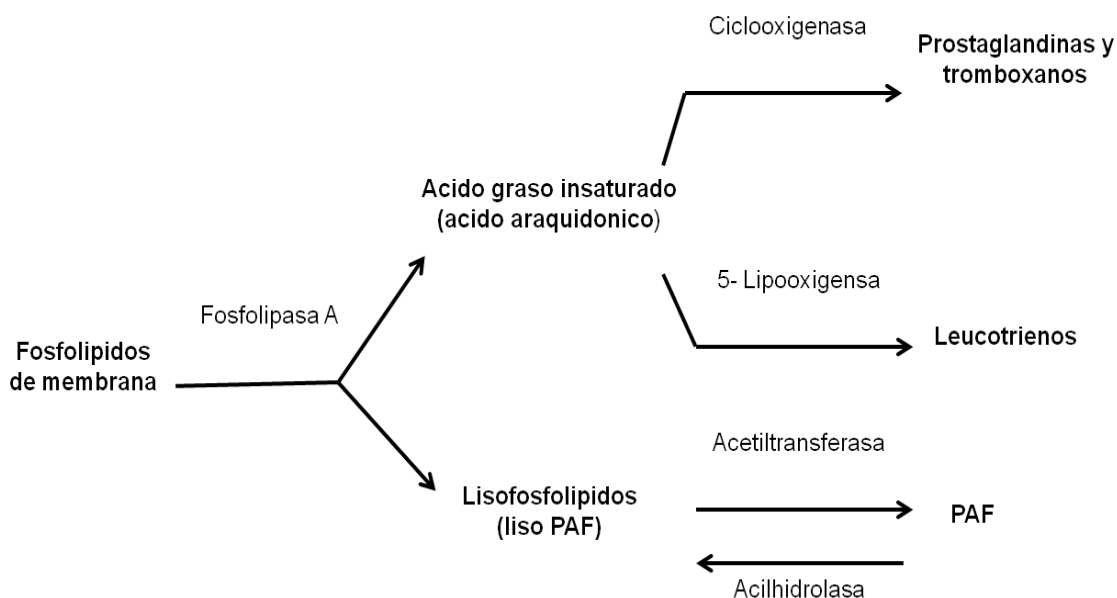


Figura 5. Mediadores de la inflamación derivados de fosfolípidos (Tomado de González y Fariñas, 2004).

Con respecto a las ciclooxigenasas, existen dos isoformas, la COX-1 que es constitutiva y COX-2 que es inducible, aumentando dramáticamente su expresión por los estímulos inflamatorios, especialmente en las células del sistema inmune. El reclutamiento de leucocitos y la inducción de COX-2 por la inflamación, apoya el uso de agentes inhibidores de COX-2 como tratamiento farmacológico de la inflamación como artritis y otras enfermedades (Puente, 2005).

Mediante la vía de la ciclooxigenasa, los productos que se forman incluyen las prostaglandinas PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, PGI₂ (prostaciclina) y TxA₂ (tromboxano), cada

uno de los cuales se genera mediante la acción de una enzima específica en un producto intermedio de la vía. Algunas de estas enzimas muestran una distribución tisular limitada. Por ejemplo, las plaquetas contienen la enzima tromboxano sintetasa, y por eso en ellas predomina el TxA_2 , un potente agregante plaquetario y vasoconstrictor, que es inestable y se convierte con rapidez en su forma inactiva TxB_2 . (Kumar *et al.*, 2010).

En la etapa en que actúa la COX se producen también radicales libres (OH y O_2) (**Figura 6**), que pueden, por si mismos, causar inflamación. Las prostaglandinas sensibilizan directamente a los vaso sanguíneos a los efectos de otros mediadores, como la histamina y la bradicinina (Vick, 1987). La respuesta inflamatoria va acompañada siempre de la liberación de prostanoïdes, siendo el producto predominante PGE_2 , aunque también se puede encontrar PGI_2 . En las zonas de inflamación aguda, la PGI_2 y la PGE_2 son generados por los tejidos y los vasos sanguíneos locales, mientras que los mastocitos liberan PGD_2 .

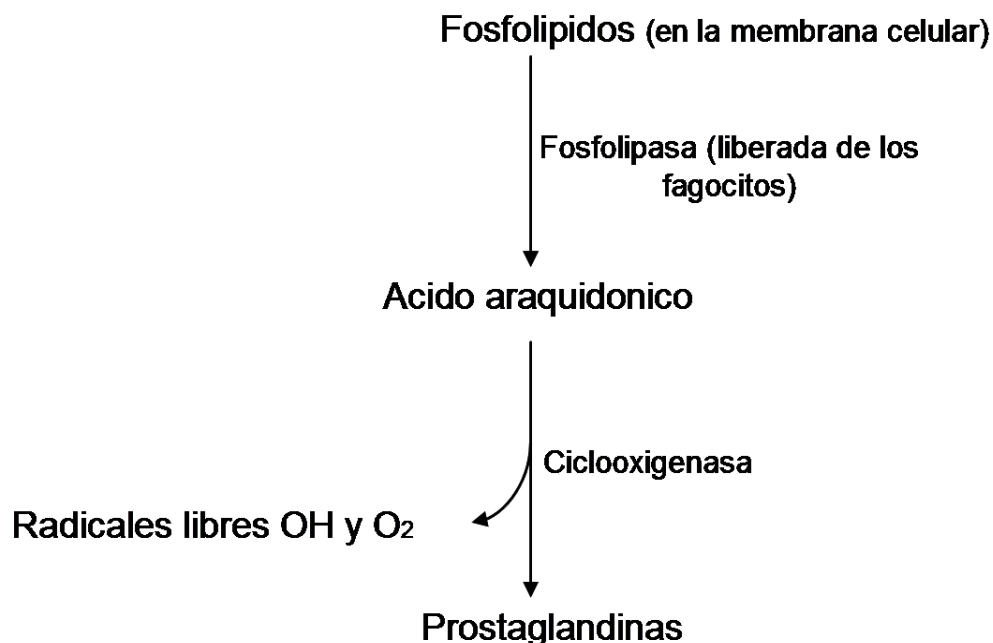


Figura 6. Producción de prostaglandinas durante la inflamación (Tomado de Vick, 1987).

En la inflamación crónica, las células de las series monocitos/macrófagos liberan también PGE_2 y TxA_2 . En conjunto, los prostanoïdes tienen una acción de tipo ying-yang en la inflamación, estimulando unas respuestas y reduciendo otras.

Por si mismos, PGE₂, PGI₂ y PGD₂ son potentes vasodilatadores y presentan un efecto sinérgico con otros vasodilatadores inflamatorios como histamina y bradicinina. Los prostanoïdes no aumentan directamente la permeabilidad de las vénulas poscapilares, sino que potencian este efecto de histamina y bradicinina. Las prostaglandinas de la serie E también ejercen efectos pirógenos (es decir, inducen la aparición de fiebre). No obstante, algunas prostaglandinas tienen efectos antiinflamatorios en ciertas condiciones. Por ejemplo, PGE₂ reduce la liberación de enzimas lisosómicas, la generación de metabolitos tóxicos del oxígeno por parte de los neutrófilos y la liberación de histamina de los mastocitos (Rang y Dale, 2008).

El segundo grupo de mediadores derivados del ácido araquidónico son los **leucotrienos** (LTs), derivados de la vía de la lipooxigenasa: LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄. Los mastocitos, además de la generación de histamina, producen todos estos derivados, los neutrófilos principalmente LTB₄ (Puente, 2005). En los neutrófilos y en determinadas poblaciones de macrófagos, el LTA₄, se metaboliza en LTB₄ un compuesto con potente actividad quimiotáctica para los neutrófilos, los monocitos y los macrófagos. En otros tipos de células, sobre todo en los mastocitos, los basófilos y los macrófagos, el LTA₄, se convierte en LTC₄, LTD₄, LTE₄ 1) que estimulan la contracción del músculo liso, 2) fomentan la permeabilidad vascular y 3) son los responsables del desarrollo de muchos de los síntomas clínicos asociados a las reacciones de tipo alérgico y mediante estos mecanismos desempeñan un papel esencial en el desarrollo del asma. Los leucotrienos ejercen su acción a través de receptores específicos de alta afinidad, que en un futuro, quizá resulten dianas importantes para los tratamientos farmacológicos (Murphy y Ward, 2006).

❖ Lipoxinas

Algunos estudios han indicado que los productos de la 15-lipooxigenasa, conocidos como lipoxinas, actúan sobre receptores específicos en los leucocitos polimorfonucleares para oponerse a la acción de LTB₄, proporcionando lo que se podría llamar “señales de parada” a la reacción inflamatoria. El ácido acetilsalicílico estimula la síntesis de estas sustancias, lo que podría estar relacionado con sus efectos antiinflamatorios (Rang y Dale, 2008).

❖ Factor activador de plaquetas

El factor activador de plaquetas (PAF) es un mediador fosfolipídico formado por una diversidad de células, la mayoría de las cuales tiene un papel en la respuesta inflamatoria. Junto a las plaquetas, el PAF es producido por los leucocitos, monocitos/macrófagos, linfocito granular grande y mastocitos. Como su nombre lo indica es un potente estimulador de la agregación y la activación plaquetarias acompañado de la liberación de productos plaquetarios (incluido el propio PAF). Tiene importantes acciones proinflamatorias: produce quimiotaxis y agregación de polimorfonucleares, monocitos y eosinófilos, y la liberación de sus productos. Disminuye la producción de IL-2 y la proliferación de linfocitos, pero aumenta su actividad supresora y su citotoxicidad, así como la producción de TFN. Es mil veces más potente que la histamina y la bradicinina para producir aumento de la permeabilidad vascular y extravasación de fluido (Esplugues y Barrachina, 2003).

❖ Citocinas

Son mediadores proteicos o peptídicos producidos y liberados por las células del sistema inmunitario durante la reacción inflamatoria, amplifican la inflamación mediante la inducción de síntesis de otros mediadores inflamatorios.

Citocinas proinflamatorias. Estas citocinas participan en las reacciones inflamatorias aguda y crónica, así como en los procesos de reparación y resolución. Las principales citocininas proinflamatorias son TNF- α e IL-1. Ésta última representa, en realidad, a una familia de tres citocininas compuesta por dos agonistas y un antagonista endógeno del receptor de IL-1. Los macrófagos y muchos otros tipos celulares liberan estos mediadores durante la reacción inflamatoria y pueden poner en marcha la síntesis y liberación de una cascada de citocininas secundarias entre las que se hallan las quimiocinas.

Citocinas antiinflamatorias. Este grupo aglutina a las citocininas que inhiben distintos pasos de la reacción inflamatoria, como TGF- β , IL-4, IL-10 e IL-3. Estas moléculas inhiben la producción de quimiocinas y las interleucinas antiinflamatorias

pueden inhibir las respuestas mediadas por los linfocitos Th-1, cuya activación inadecuada está implicada en diversos trastornos (Rang y Dale, 2008).

❖ Quimiocinas

Las quimiocinas se definen como *citocinas quimioatrayentes* que controlan la migración de los leucocitos, actuando como “coordinadoras del tráfico” en las reacciones inmunitarias e inflamatorias, se han identificado más de 40 quimiocinas que se pueden distinguir por la presencia de residuos cisteína claves de la cadena polipeptídica adyacentes (quimiocinas C-C) o separados por otro residuo (quimiocinas C-X-C).

Las quimiocinas C-X-C (principal ejemplo IL-8) actúan sobre los neutrófilos e intervienen fundamentalmente en las respuestas inflamatorias agudas. Las quimiocinas C-C (por ejemplo MCP-1 y RANTES) actúan sobre los monocitos, eosinófilos y otras células, y están implicadas predominantemente en las respuestas inflamatorias crónicas (Rang y Dale, 2008).

III.5 Tratamiento para la inflamación

El tratamiento tiene dos objetivos principales: en primer lugar, el alivio del dolor y en segundo lugar, la disminución o en teoría, la suspensión del proceso lesivo tisular (Payan y Katzung, 1996). Los fármacos que generalmente se utilizan en la inflamación son los antiinflamatorios esteroideos (corticosteroides) y no esteroideos (AINE's).

III.6 Antiinflamatorios esteroideos

La corteza suprarrenal sintetiza toda clase de hormonas esteroideas: los **glucocorticoides** cortisol y corticosterona en la zona fasciculada, los mineralocorticosteroides aldosterona y desoxicorticosterona en la zona glomerulosa y las hormonas gonadales en la zona reticular (Flórez, 2003). En los seres humanos, el principal glucocorticoide es el cortisol (hidrocortisona) que se sintetiza a partir del colesterol por las células de las zonas fasciculada y reticular, y se libera a la circulación bajo la influencia de corticotropina (ACTH) (Goldfien, 1996).

III.6.1 Mecanismo de acción de los glucocorticoides

Al penetrar en los tejidos, los glucocorticoides se difunden o se transportan a través de membranas celulares, y se fijan al complejo citoplasmático receptor de glucocorticoides proteína de choque calórico. La proteína de choque calórico se libera, y el complejo receptor-hormona se transporta entonces al interior del núcleo, donde interactúa con elementos de la respuesta de glucocorticoides (ERG) en varios genes y con otras proteínas reguladoras (que pueden ser específicas de la célula), y estimula o inhibe su expresión. En ausencia de hormonas, se inhibe la fijación de la proteína receptora al DNA; por tanto, la hormona desinhibe la acción del receptor sobre el DNA. Se piensa que las diferencias en la acción de los glucocorticoides en los diversos tejidos se rigen por otras proteínas en tejidos específicos, que también deben fijarse al gen para permitir la expresión particular de ERG (Goldfien, 1996).

Los glucocorticoides tienen la propiedad de reducir de modo notable las manifestaciones de la inflamación. Esto se debe a sus profundos efectos sobre la concentración, distribución y función de los leucocitos periféricos, así como a su inhibición de la actividad de la fosfolipasa A₂. Después de una sola dosis de un glucocorticoide de acción breve, la concentración de neutrófilos se incrementa, mientras que los linfocitos (células T y B), monocitos, eosinófilos y basófilos en la circulación disminuye en cantidad. Además inhiben las funciones de los leucocitos y macrófagos tisulares; el efecto sobre los macrófagos es limitar su propiedad para fagocitar y matar microorganismos y producir interleucina-1, pirógenos, colagenasa, elastasa, factor de necrosis tumoral y activador de plasminógeno. También pueden influir en la reducción de síntesis de prostaglandinas y leucotrienos que se origina de la activación de la fosfolipasa A₂, mediante el aumento de la concentración de membrana de algunos fosfolípidos que al parecer inhiben la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos (Goldfien, 1996). Los glucocorticoides reducen la liberación de histamina. Sobre las células inflamatorias disminuyen su migración y activación, hecho relacionado con la producción de un efecto inmunosupresor (López *et al.*, 2006).

Finalmente, los glucocorticoides pueden reducir la expresión de ciclooxigenasa (COX), disminuyendo así la cantidad de enzimas disponibles para producir prostaglandinas. Al parecer, inhiben la expresión de COX₂, que puede ser la enzima que participa en mayor medida en los efectos inflamatorios de los eicosanoides. Los glucocorticoides tiene un efecto mucho menor en la expresión de COX₁ (Goldfien, 1996). Los fármacos más empleados en procesos de inflamación son: cortisona, dexametasona, hidrocortisona, prednisolona y triamcinolona (López *et al.*, 2006).

III.7 Antiinflamatorios no esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) son un grupo de medicamentos que pueden subdividirse aún más en inhibidores de la prostaglandina sintetasa (IPS) o no inhibidores de la prostaglandina sintetasa (no-IPS). Por convención del término genérico AINE se refiere a los inhibidores de la prostaglandina sintetasa específicos y más nuevos excepto la aspirina (Lee y Katayama, 1993). Su principal uso es el tratamiento del dolor leve, por ejemplo, cefaleas, control del dolor y rigidez en los estados reumáticos y osteoartritis. Una de las acciones de las prostaglandinas está relacionada con la producción de estímulos dolorosos y también son responsables de muchas de las características de la inflamación (es decir, hinchazón y enrojecimiento). Los antiinflamatorios no esteroideos al bloquear la acción de la enzima ciclooxigenasa, reducen la producción de estas sustancias. Por tanto, la acción de estos medicamentos es prolongada en los tejidos periféricos más que en el cerebro (Trounce y Gould, 1993). Los AINE's más empleados para el tratamiento de procesos inflamatorios son los salicilatos, los más conocidos son el ácido acetilsalicílico (aspirina) y salicilato sódico, aunque también se encuentran el paracetamol, ácido mefenámico y la indometacina.

III.7.1 Mecanismo de acción de los AINE's

Las principales acciones de los AINE's se desarrollan a través de la inhibición de la oxidación del ácido araquidónico por las enzimas COX de ácidos grasos (**Figura 7**). Estas enzimas son bifuncionales, de modo que presentan dos actividades

catalíticas diferentes. En la primera de ellas, la actividad dioxigenasa incorpora dos moléculas de oxígeno a la cadena de ácido araquidónico (u otro ácido graso que funcione como sustrato) en C11 y C15, lo que da lugar al endoperóxido, muy inestable, PGG₂, que porta un grupo hidroperóxido en C15. Una segunda actividad *peroxidasa* de la enzima convierte a este intermediario en PGH₂ con un grupo hidroxilo en C15, que es transformado posteriormente por una isomerasa, una reductasa o una sintasa de manera específica para cada tipo celular en otros prostanoides (Rang y Dale, 2008).

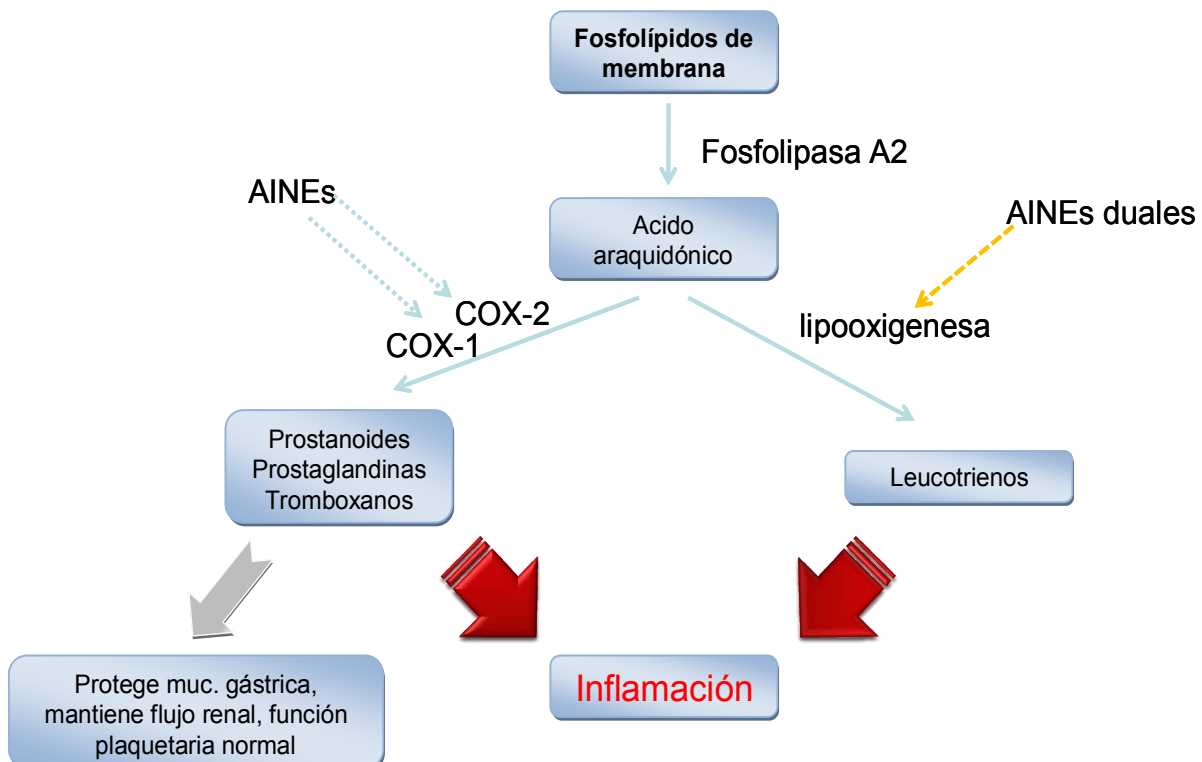


Figura 7. Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos. (AINE's).

Tanto COX-1 como COX-2 contienen grupos hemo que forman homodímeros en las membranas intracelulares. Desde el punto de vista estructural, ambas isoformas son semejantes, ya que poseen un gran canal hidrófobo al que se anclan el ácido araquidónico y otros ácidos grasos para comenzar la reacción de oxigenación. La mayoría de los AINE's inhiben solamente la reacción inicial de dioxigenación. Normalmente, actúan como inhibidores "competitivos reversibles", por

lo general, estos fármacos inhiben rápidamente a la enzima COX-1, mientras que la inhibición de la COX-2 depende en mayor medida del tiempo y, a menudo es irreversible. Para inhibir estas enzimas, los AINE entran en el canal hidrófobo y forman enlaces de hidrogeno con un residuo de arginina de la posición 120, lo que impide el acceso de los ácidos grasos que actúan como sustratos en el dominio catalítico (Rang y Dale, 2008).

La capacidad de los AINE's para reducir la inflamación es variable si bien, en general, son más eficaces frente a inflamaciones agudas que crónicas, y va a depender del tipo de proceso inflamatorio, de la participación relativa de algunos eicosanoides en él y de la posibilidad de que actúen, además, por mecanismos complementarios de acción independientes de la inhibición de las COX. Los AINE's pueden interferir, además en diversas funciones de los neutrófilos, que son las células más abundantes en la inflamación aguda; su adhesividad, agregación, quimiotaxis, fagocitosis, desgranulación y generación de radicales libres; muchos de estos efectos son independientes de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas y es posible que tengan que ver con otras acciones biológicas de los AINE's, como su capacidad de interferir en el metabolismo de nucleótidos cíclicos, la actividad de la fosfolipasa A₂, la incorporación de precursores del ácido araquidónico a la membrana de monocitos y macrófagos (Feria, 2003).

III.8 Efectos adversos de los antiinflamatorios

Los antiinflamatorios producen muchos efectos beneficiosos pero también pueden provocar efectos adversos, que afectan al aparato digestivo (esófago, estómago, intestino), al aparato respiratorio (pulmones y vías respiratorias), al sistema nervioso (cerebro), al sistema renal (riñones y vías urinarias), a la piel y a los componentes de la sangre (Sociedad Española de Reumatología, 2009). Ejemplo de estos es la aspirina que en dosis grandes produce efectos sobre el octavo nervio craneal, es decir, somnolencia, tinnitus, sordera y vómito, esto se relaciona con una sobrerrespiración debida a la estimulación del centro respiratorio y a la acidosis y en casos raros es causa de hematemesis o broncospasmo y en consecuencia, un ataque similar al asma, debido a la deficiente producción de prostaglandinas.

Mientras que la indometacina puede producir indigestión y hemorragia gástrica, pero son menos comunes que con la aspirina. Sin embargo, en raras ocasiones es factible que produzca ulceración y perforación intestinal, y pueden dar dolor de cabeza leve y cefalea esto se da si la dosis inicial es alta (Trounce y Gould, 1993).

Debido a los efectos adversos de los antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, grupos de investigación continúan en la búsqueda de nuevos tratamientos para este proceso. Una fuente la constituyen las plantas, que han desarrollado diversos mecanismos de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico. Como parte de la protección química, las plantas producen metabolitos secundarios (MS). Se ha documentado que los MS presentan una diversidad de actividades biológicas: antimicrobiana, antioxidante, (Croteau *et al.*, 2000), insecticida (Pascual-Villalobos, 1996), anticancerígeno (Gil *et al.*, 2009) y analgésico (Qnais *et al.*, 2009) y antiinflamatorio (Njamen, 2004).

En México alrededor de 4000 especies de plantas con flores (aproximadamente 15% de la flora total) tienen atributos medicinales, es decir que más o menos 1 de cada 7 especies posee alguna propiedad curativa. Los antiguos pobladores de nuestro territorio desarrollaron una de las herbolarias más complejas del mundo, debido a la riqueza cultural y étnica que alcanzaron; así pues, desde tiempos prehispánicos diferentes grupos étnicos han usado plantas con fines medicinales (Ocegueda *et al.*, 2005). Entre las plantas a las que se les ha atribuido un efecto antiinflamatorio se encuentran la caléndula (*Calendula officinalis*), utilizada para irritaciones cutáneas, escaldaduras, quemaduras, picaduras de insectos o como cicatrizante; la cola de caballo (*Equisetum arvense*) ampliamente usada para cistitis, uretritis, gota, edemas su uso tópico ayuda en heridas y ulceraciones dérmicas, bucales o cornéales, conjuntivitis, dermatitis, prurito y vulvovaginitis; la ortiga (*Urtica dioica*) empleada en procesos inflamatorios de las vías urinarias, como coadyuvante en la terapia antirreumática y antigotosa, hemorragias y enteritis (Linares, 2013).

Otra planta de interés, *Erythrina americana* Miller, es usada en los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos y Puebla, para aliviar el dolor de muelas. Se recomienda hervir un trozo de la corteza y aplicarla en forma de vaporizaciones en la

mejilla, o bien se aplica dos o tres veces la semilla molida, sola o con sebo. Cuando hay hemorragia vaginal, a la decocción de la corteza se le agrega un trozo de raíz de raspa y se bebe como agua de tiempo. Se menciona útil en el tratamiento de las afecciones de los riñones, oguío (bronquitis) y mal de orín (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Amo en Hastings (1990) menciona que en el estado de Veracruz las hojas de *Erythrina americana* Miller se aplican sobre abscesos y úlceras o se pueden ingerir en caso de picaduras de insectos. También la fruta se utiliza ampliamente en los brazos y piernas o para dolores de cabeza e inflamación de los ojos. En el Anexo 2 se encuentra una descripción detallada de la especie *E. americana*

IV. ANTECEDENTES

Con la finalidad de analizar las potencialidades del género *Erythrina* (Anexo 3, descripción del género) como fuente de metabolitos secundarios con propiedades biológicas, a partir de bases de datos vinculadas al estudio de los productos naturales, Pino *et al.*, (2004) realizaron el análisis de la información etnomédica, química y biológica del género. Los autores encontraron los siguientes hallazgos a) Que al menos 30 especies diferentes en 34 países, entre los que se destacan India, México, Perú e Indonesia utilizan el género *Erythrina* en la medicina tradicional para el alivio de 60 trastornos distintos, b) Que extractos o fracciones de 34 especies se han estudiado en 63 modelos de bioactividad diferente, c) La actividades biológicas probadas con mayor frecuencia son la antibacteriana, antiinflamatoria, analgésica, antipirética, antifúngica y el efecto citotóxico.

IV.1 Estudios experimentales de la actividad antiinflamatoria en especies del género *Erythrina*

En los últimos años, grupos de investigación en diferentes partes del mundo han mostrado interés en evaluar la actividad biológica de plantas del género *Erythrina*. A continuación se presentan estudios que muestran hallazgos sobre la actividad antiinflamatoria de estas especies.

Saidu *et al.*, (2000) evaluaron la actividad antiplasmodial, analgésica y antiinflamatoria del extracto acuoso del tallo de corteza de *Erythrina senegalensis*. Para evaluar el efecto antiinflamatorio los autores emplearon el modelo de edema plantar inducido con albumina de huevo encontrando que se suprimió el proceso inflamatorio ya que el volumen de la pata con dosis de 50 y 100 mg/Kg de extracto fue similar al de los animales que recibieron ácido acetil salicílico.

En otro estudio, Miño *et al.*, (2002) evaluaron la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. (ceibo). La actividad antiinflamatoria de los extractos diclorometánico, metanólico y acuoso de hojas de *E. crista-galli* (300 mg/kg) fueron evaluados con el modelo de edema plantar inducido por carragenina. Los resultados mostraron que sólo el extracto diclorometánico presentó efecto

antiinflamatorio, inhibiendo el edema (51%) a las 3 h. En contraste, con el modelo de edema auricular inducido con TPA los extractos de diclorometano y metanólico (1 mg/oreja) de hojas de *E. crista-galli* produjeron una respuesta antiinflamatoria, con mayor efectividad por parte del extracto de diclorometano (inhibición del edema de 72.5%).

Njamen *et al.*, (2003) evaluaron el efecto del extracto de acetato de etilo (200 mg/kg) de *Erythrina mildbraedii* en el modelo de inflamación aguda, edema plantar inducido por carragenina. Este extracto inhibió el edema en un 33% 1 h después de la aplicación de carragenina y a las 3 h la inhibición fue del 35%. El efecto de erycristagalina (pterocarpano aislado), se evaluó con el modelo de edema plantar inducido con fosfolipasa A₂ en ratón (inflamación crónica). La administración de 5 mg/Kg del pterocarpano mostraron el 51% de inhibición del edema 30 minutos después de la inyección del agente irritante y este efecto se redujo a los 60 minutos en comparación el fármaco de referencia ciproheptadina. Los autores concluyen que el efecto antiinflamatorio de erycristagalina aislado de *E. mildbraedii* probablemente está relacionado con la inhibición de la actividad de la 5-lipoxigenasa.

En 2005, Marchioro *et al.*, reportaron las propiedades anti-nociceptivas del extracto acuoso (300 y 600 mg/kg) de hojas de *Erythrina velutina*. La dosis de 600 mg/kg disminuyó el tiempo de lamida de pata en la segunda fase del modelo de formalina y ambas dosis inhibieron el número de contorciones inducidas por ácido acético. En contraste en la prueba de edema plantar con carragenina el extracto acuoso de hojas de *E. velutina* no mostró signos de actividad antiinflamatoria a lo largo de las 4 h de la prueba.

En el 2011 Vasconcelos *et al.* evaluaron la actividad antiinflamatoria de los extractos hidroalcohólicos de *Erythrina velutina* y *Erythrina mulungu*, en dosis de 200 y 400 mg/kg con los modelos de edema plantar inducido por carragenina y dextrán, los resultados con el modelo de carragenina evidencian que la administración oral del extracto hidroalcohólico de *E. mulungu* (200 mg/kg) disminuyó significativamente el edema y que la reducción más importante fue a las 3 horas, mientras que con la dosis de 400 mg/kg la inhibición del edema fue leve (19.7 %). Por otro lado, el

extracto hidroalcohólico de *E. velutina* no tuvo efecto sobre el edema. Con el modelo de edema inducido con dextrán, *E. velutina* redujo el edema de 33 - 53.1% durante los cinco intervalos de tiempos evaluados (1, 2,3, 4 y 24 h). Es importante hacer notar que a las 4 h las dosis de 200 y 400 mg/kg de *E. velutina* presentaron los valores más altos de reducción del edema (53.1 y 51.3% respectivamente). Mientras que la dosis más baja (200 mg/kg) de *E. mulungu* redujo el edema al 30.4, 37.6 y 32.4% a las 2, 3 y 4 h respectivamente; y la dosis máxima (400mg/kg) también mostró actividad anti-inflamatoria, pero sólo en el 3 y 4 h (disminución de 30.2 y 37.6%, respectivamente). Los autores concluyen que *E. velutina* y *E. mulungu* presentan acciones anti-edematosas que posiblemente se produzcan por mecanismos distintos. Mientras que *E. velutina* parece interferir especialmente en los procesos inflamatorios en los que los mastocitos tienen un papel importante, *E. mulungu* ejerce una mayor actividad en el proceso inflamatorio que depende principalmente de los leucocitos polimorfonucleares y señalan que se necesitan más estudios para determinar el mecanismo exacto de acción de las especies investigadas.

En ese mismo año 2011 De Oliveira *et al.*, trabajaron el extracto hidroalcohólico (raíz, corteza de raíz, tallo y corteza de tallo), las fracciones de acetato de etilo y cloroformo (raíz) de *Erythrina mulungu* en dosis de 100 mg/kg, para evaluar la actividad nociceptiva y antiinflamatoria de dicha especie, el modelo de peritonitis inducida con Zymosan se empleó para inducir una inflamación peritoneal y poder medir el número de células migradas a la cavidad peritoneal. A excepción de la fracción de acetato de etilo (raíz), los extractos de las distintas partes de la planta y la fracción clorofórmica redujeron significativamente el número de células migradas a la cavidad peritoneal, los porcentajes de inhibición fueron 43.80% (tallo), 14.72% (corteza de tallo), 36.78% (corteza de raíz), 56.78% (raíz) y 40.19% (fracción clorofórmica), esto parece indicar que los extractos y fracción clorofórmica contienen principios activos con efecto antiinflamatorio, de tal manera se continua con estudios de caracterización farmacológica y de los posibles mecanismos de acción responsables de la actividad antiinflamatoria así como nociceptiva.

Sokeng *et al.* (2013) evaluaron el efecto antiinflamatorio de un flavonoide prenilado aislado de *Erythrina droogmansiana*, abyssinona V-4'-eter de metilo, empleando modelos de inflamación aguda (edema plantar inducido por carragenina, edema auricular inducido por xileno) y crónica (granuloma inducido por pellet de algodón). Las dosis de 2.5, 5 y 10 mg/kg presentaron actividad antiinflamatoria en todos los modelos. En el edema plantar inducido por carragenina se presentó una inhibición del edema dosis dependiente. A las 3 horas de la inyección de carragenina se produjo un 21.88%, 25% y 56.25% de inhibición con 2.5, 5 y 10 mg/kg respectivamente en comparación a dexametasona (46.88% de inhibición). En el edema auricular inducido por xileno las 3 dosis mostraron una inhibición del 22.45%, 36.73% y 62.65%, mientras que dexametasona inhibió el 59.08%. Finalmente, en la formación del granuloma las dosis empleadas (2.5, 5 y 10 mg/kg) inhibieron la formación del tejido granulomatoso de manera dosis dependiente. La dosis más alta (10 mg/kg) mostró una inhibición máxima de 61.32%, mientras que un 39.91% y 45.65% fue observado con las dosis de 2.5 y 5 mg/kg respectivamente, en comparación al 68.72% alcanzado con dexametasona (2.5 mg/kg).

Recientemente, Murugalakshmi *et al.* (2014) encontraron actividad antiinflamatoria en los extractos acuosos de hojas de *E. variegata* mostrando un efecto dosis dependiente en el edema plantar inducido por carragenina. El extracto de planta también produjo un efecto analgésico dosis dependiente contra el dolor inducido térmicamente en el modelo de inmersión de cola.

Empleando los modelos de edema plantar inducido por carragenina y el granuloma inducido por pellet de algodón Mantena y Tejaswani (2015) evaluaron la actividad antiinflamatoria del extracto alcohólico de hojas (200 y 400 mg/kg) de *Erythrina variegata*. Los resultados evidenciaron que ambas dosis del extracto inhibieron el edema en un 56.23% con la dosis de 200 mg/kg y un 71.66% con la de 400 mg/kg.

IV.2 Modelo de edema plantar inducido con carragenina

El modelo que en este estudio se usará para evaluar la actividad antiinflamatoria *E. americana* será el edema plantar inducido con carragenina. En este modelo, la solución de carragenina se inyecta a nivel de la aponeurosis plantar de la rata provocando justo después de la inyección una respuesta inflamatoria aguda caracterizada por un proceso bifásico, mediado por diferentes mediadores químicos: en la primera fase, que se da durante la primera hora, intervienen aminas vasoactivas como la histamina y serotonina, mientras que en la segunda fase, comprendida entre 1.5 y 2.5 h intervienen las cininas. A partir de la 2.5 a las 6 h, son las prostaglandinas PGE1, PGE2 y PGF2 los principales mediadores. Es durante este lapso de tiempo, cuando la respuesta vascular se hace máxima y estable (entre las 4 y 6 h) (Fernández y Torres, 2004). Una descripción detallada de este modelo animal se presenta en el Anexo 1.

IV.3 Migración celular

La migración de leucocitos es importante no sólo en los procesos de extravasación que se producen durante la respuesta inflamatoria, sino que también representa un punto clave en la homeostasis del propio sistema. (Springer, 1995). Una de las características esenciales de la inflamación aguda es la acumulación de neutrófilos polimorfonucleares, en los tejidos afectados. Los neutrófilos se adhieren al endotelio vascular, activándose durante el proceso. Posteriormente se aplanan y emigran desde los vasos al tejido adyacente, atravesando la capa de células endoteliales (Murphy y Ward, 2006). En el presente trabajo, se llevo a cabo la técnica de migración celular de acuerdo con el método descrito por Vázquez *et al.*, (1996), el cual permitió determinar el efecto antiinflamatorio de *E. americana*. Para ello se realizó un conteo de neutrófilos presentes en el líquido peritoneal de los animales, extraído después de inyectar vía intraperitoneal una solución de carragenina, para inducir una inflamación de tipo aguda, se tomo en cuenta principalmente a los neutrófilos, ya que estas células son las primeras en llegar a una región del cuerpo donde tiene lugar un proceso inflamatorio agudo.

V. JUSTIFICACIÓN

Los estudios descritos anteriormente informan de la actividad antiinflamatoria de algunas especies del género *Erythrina*, en comparación a las casi 121 especies descritas en el mundo y no se encontraron reportes experimentales sobre esta actividad en ninguna de las más de 27 especies que se encuentran en nuestro país. No obstante, en el Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, se describen los usos empíricos de especies de *Erythrina*. En el estado de Baja California Sur, las hojas tostadas de *E. flabelliformis* se aplican en caso de vaginitis o dolor de riñón y sus semillas machacadas son usadas para el dolor de muelas o se aplican como cataplasma cuando hay dolores de ojos. En el estado de Veracruz, una maceración en agua de corteza y hojas de *E. berteroana* se utiliza para tratar piquetes de animales ponzoñosos. En el Distrito Federal, *E. coralloides* se recomienda para atender problemas de sarampión y en Morelos se indica para atender la neuritis, mientras que en Michoacán, el látex se aplica en casos de mordeduras de víbora y picadura de alacrán. Con respecto a *E. americana* la planta que nos ocupa, se usa para el dolor de muelas o se menciona útil para el tratamiento de las afecciones de los riñones, oguío (bronquitis) y mal de orín en los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos y Puebla, estos padecimientos presentan dolor, primer síntoma de los cuatro fundamentales del proceso inflamatorio. Mientras que Amo en Hastings (1990) menciona que en el estado de Veracruz las hojas de *E. americana* se aplican sobre abscesos y úlceras o se pueden ingerir en caso de picaduras de insectos. También la fruta se utiliza ampliamente en los brazos y piernas o para dolores de cabeza e inflamación de los ojos.

Con la intención de confirmar experimentalmente los usos empíricos de las especies mexicanas del género *Erythrina*, este estudio tiene como finalidad determinar el potencial antiinflamatorio de extractos de *E americana* mediante el modelo de edema plantar inducido por carragenina.

VI. HIPÓTESIS

Estudios científicos han confirmado la actividad antiinflamatoria de especies del género *Erythrina* y en la medicina tradicional de nuestro país *E. americana* se usa para atender padecimientos asociados con la inflamación; por lo que se espera que extractos de *E. americana* reduzcan el edema plantar inducido con carragenina en ratas.

VII. OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar la actividad antiinflamatoria de *Erythrina americana* Miller usando el modelo de edema plantar inducido por carragenina.
- Evaluar el efecto del aceite de semillas de *E. americana* Miller en la reducción de la migración de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos).

VIII. OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos hexánico y metanólico de inflorescencias de *E. americana* Miller.
- b) Evaluar el efecto antiinflamatorio del liofilizado de hojas *E. americana* Miller
- c) Evaluar el efecto antiinflamatorio del aceite de semillas de *Erythrina americana* Miller.
- d) Evaluar el efecto del aceite de semillas de *E. americana* Miller en la migración de leucocitos polimorfonucleares.

IX. MATERIALES Y MÉTODOS

IX.1 *Colecta del material vegetal*

La recolección de ejemplares botánicos y semillas de *E. americana* se realizó en la avenida acueducto de la colonia Barrio la Laguna Ticomán, Delegación Gustavo A. Madero, Los ejemplares se trasladaron al Herbario de la FES-Iztacala para su determinación taxonómica y quedaron registrados en la colección del Herbario IZTA. Otra parte del material vegetal fue secado, pulverizado y se acondicionó para su extracción.

IX.2 *Reactivos*

Los disolventes hexano y metanol fueron grado reactivo de la marca JTBaker. Los fármacos indometacina (antiinflamatorio no esteroideo), dexametasona (antiinflamatorio esteroideo) y carragenina (agente irritante) pertenecen a la marca SIGMA-ALDRICH.

IX.3 *Animales*

Para los bioensayos se utilizaron ratas macho Wistar con un peso entre 200 g y 300 g. Los animales se mantuvieron en cajas habitación bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo (luz-oscuridad de 12/12 h), con acceso *ad libitum* de agua y alimento. El manejo de los animales se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-200-1999): Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

IX.4 *Preparación de los extractos*

- i. **Extracto hexánico y metanólico de inflorescencias de *E. americana*.**- Las inflorescencias se maceraron en hexano y después en metanol. Posteriormente, los extractos se filtraron y concentraron a presión reducida. Una vez calculado el rendimiento de los extractos, los viales permanecieron en refrigeración hasta su uso en los bioensayos.

- ii. **Liofilizado de hojas de *E. americana*.**- Las hojas de *E americana* se maceraron en una mezcla de Agua: Etanol (70:30). El etanol se eliminó en rotavapor a presión reducida para después liofilizar el residuo acuoso.
- iii. **Aceite de semillas de *E. americana*.**- Las semillas se trituraron y se extrajeron por 48 h en un equipo Soxhlet usando hexano como disolvente. Posteriormente, el exceso de hexano se retiró concentrando a presión reducida en un rotavapor. Después de una separación ácido-base, la fase orgánica obtenida en diclorometano se concentró eliminando el disolvente y esta fracción lipídica constituye lo que llamaremos aceite de las semillas de *E. americana*.

IX.5 Edema plantar inducido con carragenina

El método consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina (un mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondus crispus* a nivel de la aponeurosis plantar de rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos mediadores químicos (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta.

Los animales fueron distribuidos al azar en 6 grupos independientes (n=7-10) para administrarles por vía oral, uno de los siguientes tratamientos: aceite de semillas de *E. americana* (2 mL), extractos hexánico (500 mg/kg) y metanólico (500 mg/kg) de inflorescencias de *E. americana*, liofilizado de hojas de *E. americana* (400 mg/kg). Un grupo recibió Indometacina (10 mg/kg) fármaco antiinflamatorio no esteroideo (control positivo) y otro grupo (control negativo) recibió 0.5 mL de agua destilada. Una hora después, con la finalidad de producir el edema, se inyectó en la aponeurosis plantar derecha de cada animal 0.1 mL de una solución de carragenina al 1% (**Figura 8A**).



Figura 8. Inyección en aponeurosis plantar derecha (A), medición del volumen de las patas traseras en plethysmómetro (B).

Una hora después de haber producido el edema, se procedió a medir los volúmenes de la pata inflamada (derecha) y la pata que no recibió la inyección (izquierda) (**Figura 8B**). El proceso se repitió cada hora en un lapso de 4 horas. En la **Figura 9** se muestra el diagrama de flujo para la inducción del edema plantar con carragenina. El efecto antiinflamatorio de los extractos se expresó en términos de porcentaje de reducción del edema, mediante la fórmula de Boeris *et al.* (2004):

$$\% \text{reducción edema} = \frac{\Delta C - \Delta T}{\Delta C} \times 100$$

Donde:

ΔC = media del grupo control

ΔT = media del grupo tratado

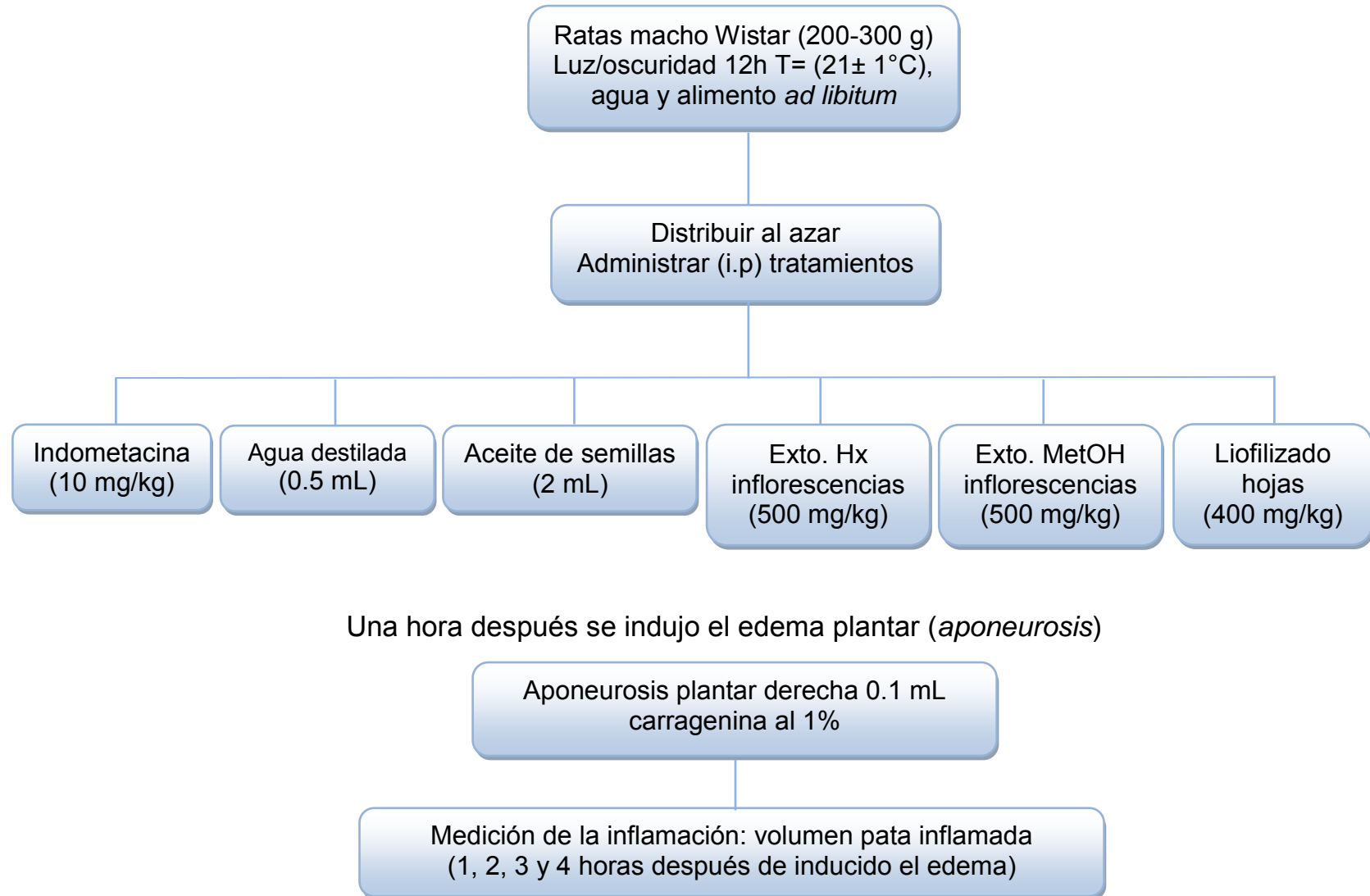


Figura 9. Diagrama de flujo para la evaluación del efecto antiinflamatorio (bioensayo)

IX.6 Migración celular

Los resultados del edema plantar inducido por carragenina evidenciaron un efecto antiinflamatorio del aceite de semillas de *E. americana* (2 mL); en este modelo la característica principal es la inducción de una reacción inflamatoria aguda, y durante la 2 h posterior a la inyección de carragenina se origina la migración celular, donde generalmente intervienen leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos). Una reducción en el número de neutrófilos está relacionada con el mecanismo de acción de los agentes anti-inflamatorios que actúan inhibiendo la ruta del ácido araquidónico, útil para la producción de prostaglandinas que permiten la quimiotaxis de los neutrófilos. Con la intención de confirmar la actividad antiinflamatoria del aceite de semillas de *E. americana* y el efecto que pueda tener sobre la reducción de neutrófilos se llevó a cabo la técnica de migración celular.

Se utilizaron ratas macho Wistar (200-300 g) que se distribuyeron al azar en grupos independientes (n = 5) para administrarles, vía intragástrica uno de los siguientes tratamientos: 1, 2 ó 3 mL de aceite de semillas de *E. americana*, dexametasona (1 mg/kg, antiinflamatorio esteroideo) a otros dos grupos se les administró el vehículo (0.5 mL agua destilada). Una hora después de la administración de los tratamientos, a todos los grupos excepto uno que recibió vehículo, se les administraron 3 mL de carragenina (100 µg/ml) vía i.p.

Transcurridas 4 horas los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y su cavidad peritoneal se lavó con 10 mL de solución salina amortiguada con fosfatos, pH de 7.4, conteniendo 5 U/mL de heparina y 5% de albúmina sérica bovina. Se aplicó masaje en la región abdominal por un período de dos minutos. Del líquido peritoneal de cada uno de los animales, se recuperaron 5 mL de líquido y se tomaron muestras de 20 µL que se diluyeron en 400 µL de violeta de genciana en ácido acético. Finalmente, la cuenta total de leucocitos se realizó en la cámara de Neubauer.

El volumen restante del líquido peritoneal fue centrifugado por 3 minutos a 1500 rpm, se decantó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió en 0.4 mL de solución seroalbúmina al 3%. De esta suspensión se colocaron 1 y 2 gotas, respectivamente sobre portaobjetos cubiertos con papel filtro que se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24 horas. Una vez que los portaobjetos estuvieron secos, se tiñeron sumergiéndolos por 5 minutos en colorante Wright y se lavaron con agua corriente durante 3 minutos. Finalmente, se realizó la cuenta diferencial de células blancas siguiendo el método propuesto por Souza y Ferreira (1985), que consiste en registrar el número de neutrófilos de entre los diferentes grupos de leucocitos para calcular la migración de neutrófilos hacia la cavidad peritoneal. La **Figura 10** muestra el procedimiento que se siguió para la realización del conteo total y diferencial de las células blancas.

Los resultados se expresaron como número de neutrófilos/ μ L. El efecto de las dosis del aceite de semillas de *E. americana* se expresó en términos de porcentaje inhibitorio de la migración de neutrófilos, mediante la fórmula de Murugan y Parimelazhagan (2013):

$$\% \text{inhibitorio de la migración de neutrófilos} = \left(\frac{C - T}{C} \right) \times 100$$

Donde

C= N° de neutrófilos del grupo control

T= N° de neutrófilos del grupo tratado

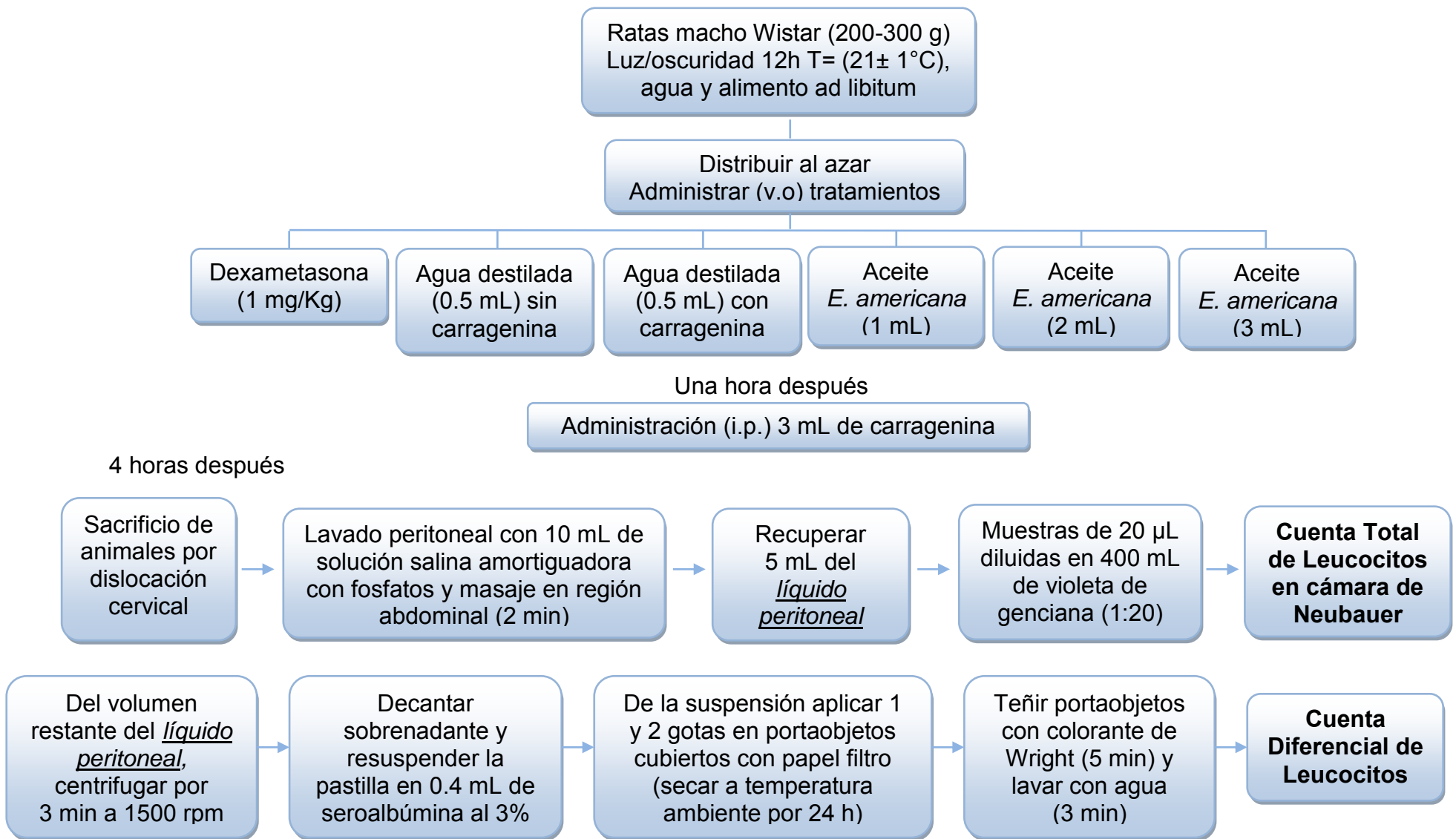


Figura 10. Diagrama de flujo que muestra el procedimiento realizado para la técnica de migración celular

IX.7 Análisis estadístico

Para el modelo de edema plantar, las diferencias de volumen de la pata inflamada derecha con la pata izquierda control del animal se analizaron con un ANOVA de medidas repetidas (tratamiento en función del tiempo), el ANOVA de un factor se empleó para analizar los efectos de los tratamientos en cada hora de evaluación; así como para el análisis de los datos obtenidos en el número de neutrófilos que migraron a la cavidad peritoneal por el efecto de cada tratamiento. Cuando se presentaron diferencias estadísticas significativas se aplicó la prueba post-hoc de Duncan. Los valores se consideraron significativos cuando $p \leq 0.05$ y los resultados se expresaron como la media \pm error estándar de la media (ESM).

X. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

X.1 Material vegetal

La identificación del material vegetal se realizó en el Herbario IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala donde un ejemplar fue depositado y al que se le asignó el número de registro: 2142, indicando que el nombre de la especie: *Erythrina americana* Miller perteneciente a la familia Fabaceae (**Figura 11**).



Figura 11. Ejemplar de *Erythrina americana* Miller con número de registro indicado por el Herbario de la FES Iztacala

X.2 Rendimiento en el proceso de obtención de los extractos

El rendimiento del extracto hexánico de inflorescencias de *E. americana* fue de 0.585% mientras que el del extracto metanólico de 1.604%. Por otro lado, el rendimiento del liofilizado de hojas fue de 1.32%.

X.3 Edema inducido por carragenina

Los resultados de edema (incremento de volumen Δ_v en μL) inducido por carragenina se analizaron con un ANOVA de medidas repetidas. El análisis indicó la presencia de diferencias significativas entre los grupos tanto para el factor tiempo $F_{(1,44)} = 298.113$, $p = 0.0001$ como en la interacción tiempo-tratamiento $F_{(5,44)} = 19.274$, $p = 0.0001$ y la prueba de Duncan formó 4 subconjuntos: subconjunto a) indometacina (10 mg/Kg); subconjunto b) Aceite de semillas de *E. americana* (2 mL); subconjunto c) Liofilizado de hojas (400 mg/Kg) y Extracto Hx (500 mg/Kg) de inflorescencias de *E. americana* y el subconjunto d) conformado por Agua destilada (0.5 mL) y Extracto MetOH (500 mg/Kg) de inflorescencias de *E. americana*. En la **Figura 12** se observa que el grupo de animales que recibió el extracto MetOH de inflorescencias y el grupo control de agua destilada presentaron el máximo incremento del edema a lo largo del tiempo con respecto al grupo de indometacina, fármaco de referencia que presentó los valores más bajos de edema a lo largo del tiempo. El aceite de semillas presentó valores de edema ligeramente superiores al fármaco de referencia. Mientras los valores de edema del liofilizado de hojas y del extracto hexánico de inflorescencias de encuentran intermedios entre los grupos descritos con anterioridad.

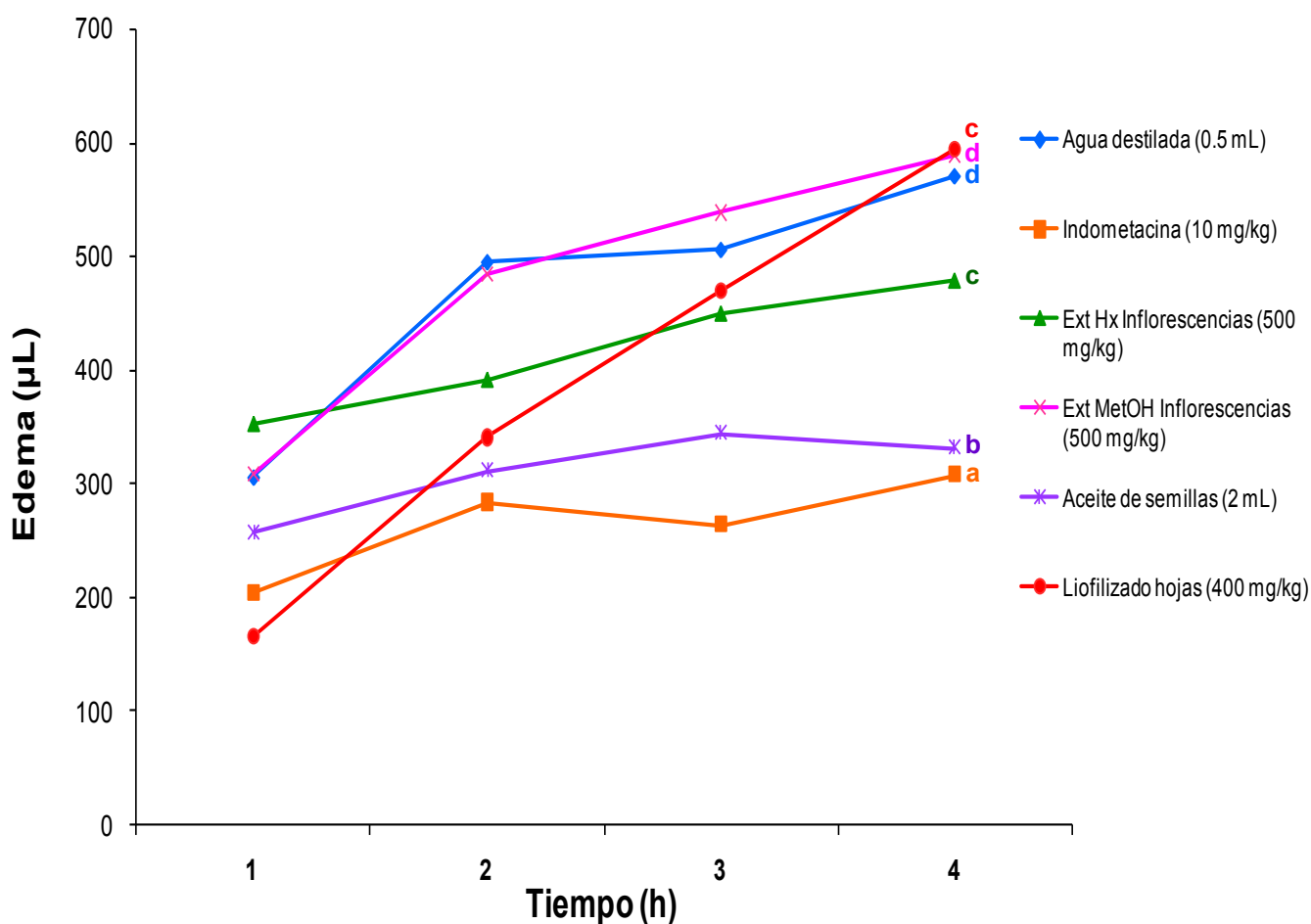


Figura 12. Incremento del edema (volumen μL) de la pata trasera izquierda sometida a la inyección de carragenina en función del tiempo. Las letras indican diferencias estadísticas significativas por tratamiento (Duncan, $p < 0.05$) $n = 7-10$.

En el **Cuadro 2** se presentan los porcentajes de inhibición del edema con los extractos de *E. americana*. Los mayores porcentajes de inhibición ocurrieron a las 2 y 4 h con el aceite de semillas de *E. americana* (36.96 y 41.75% respectivamente), alcanzando el valor más alto 4 h después de la inducción del edema con carragenina. El liofilizado de hojas presentó una inhibición máxima a la 1 h (43.58%) pero fue disminuyendo notablemente, incluso llegando a tener un valor negativo a las 4 h, lo que indica un mayor edema que el control. Valores negativos también se apreciaron con el extracto MetOH. A pesar de que la 1 h el extracto Hx de las inflorescencias presentó valores negativos, en las 3 horas siguientes la inhibición del edema osciló entre 11.03 y 20.94%.

Grupo	1h	2h	3h	4h
Indometacina (10 mg/kg)	33%	42.68%	47.77%	46.02%
Ext. Hx inflorescencias (500 mg/kg)	-15.01%	20.94%	11.03%	15.97%
Ext. MetOH inflorescencias (500 mg/kg)	-5.65%	2.17%	-6.38%	-3.77%
Aceite semillas (2 mL)	15.65%	36.96%	31.91%	41.75%
Liofilizado de hojas (400 mg/kg)	43.58%	30.43%	6.38%	-5.66%

Cuadro 2. Porcentajes de inhibición de extractos de *E. americana* e Indometacina sobre el edema plantar inducido por carragenina.

Para evaluar el efecto antiinflamatorio de *E americana*, en este experimento se empleó el modelo de edema plantar inducido por carragenina; y el nivel máximo de edema con el agente irritante se alcanzó a las 4 h. Este resultado es consistente con el de distintos grupos de investigación utilizando este modelo quienes obtuvieron la formación máxima del edema entre la 3 y 5 h posteriores a la inyección subplantar de carragenina (Aguilar *et al.*, 2002, Meckes *et al.*, 2004 y Pingususa *et al.*, 2015).

En este modelo de inflamación aguda, la inyección del agente irritante (carragenina) en la aponeurosis plantar provoca una respuesta bifásica. La fase temprana (1-2 horas) está mediada por la liberación de histamina, serotonina y cininas; seguida por una fase tardía (3-4 horas) relacionada con la liberación de prostaglandinas y sustancias de reacción lenta, con un efecto máximo que se presenta alrededor de la 3 h, la migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente (Vinegar *et al.*, 1968). En este experimento, el aceite de semillas (2 mL) disminuyó el edema a partir de la segunda hora, efecto que se mantuvo hasta las 4 h, tiempo en el que se alcanzó el máximo efecto (41.75% de inhibición). Los resultados sugieren que el

aceite de semillas actúa en ambas fases de este modelo y que su efecto antiinflamatorio puede deberse, a la inhibición de los mediadores pro-inflamatorios, y la reducción de la migración de neutrófilos.

La ANOVA de una vía se realizó para detectar diferencias significativas entre los tratamientos en cada una de las cuatro horas de evaluación posteriores a la inducción del edema con carragenina. En la primera hora ($F_{(5,49)} = 20.688$, $p = 0.0001$), la prueba post hoc de Duncan formó 3 subconjuntos: Subconjunto a) Liofilizado hojas (400 mg/Kg) de *E. americana* e indometacina (10 mg/Kg); Subconjunto b) Aceite de semillas de *E. americana* (2 mL) y Subconjunto c) Agua destilada (0.5 mL), Extracto MetOH (500 mg/Kg) y Extracto Hx (500 mg/Kg) de inflorescencias de *E. americana*. En la **Figura 13** se expresa el incremento de volumen (edema) una hora después a la inyección de carragenina. Los grupos de animales tratados con liofilizado de hojas (400 mg/Kg) de *E. americana* y el fármaco de referencia (indometacina) mostraron los valores más bajos del edema ($172.9 \pm 28.34 \mu\text{L}$ y $205.32 \pm 13.93 \mu\text{L}$ respectivamente), el grupo que recibió el aceite de semillas tuvo el valor intermedio en el incremento del edema con un $258.46 \pm 12.96 \mu\text{L}$ y en contraste los valores más altos de edema fueron registrados con el extracto Hx ($352.44 \pm 16.31 \mu\text{L}$), MetOH ($323.74 \pm 11.7 \mu\text{L}$) que se comportaron como el agua destilada que mostro un incremento de $306.43 \pm 11.39 \mu\text{L}$.

El hecho de que el efecto antiinflamatorio del liofilizado de hojas de *E. americana* sólo se presente en la primera hora y después desaparezca, en parte es consistente con lo reportado por Marchioro *et al.* (2005) quienes no encontraron actividad antiinflamatoria a lo largo de las cuatro horas de la prueba con el extracto acuoso de hojas de *E. velutina* (300 y 600 mg/kg) y también con los datos de Miño *et al.* (2002), quienes tampoco encontraron efecto antiinflamatorio con el extracto acuoso (300 mg/kg) de hojas de *E. crista-galli*. En contraste, Vasconcelos *et al.* (2011) reportaron que el extracto hidroalcohólico (200 mg/kg) de corteza de tallo de *E. mulungu* disminuyó el edema especialmente después de las 2 horas y este efecto se mantuvo hasta las 24 h. Es probable que el efecto antiinflamatorio encontrado con *E. mulungu* y no en los extractos acuosos de *E. velutina*, *E. crista-galli* y *E.*

americana, pueda explicarse en términos de la estructura vegetal a partir de la cual se obtuvo el extracto hidroalcohólico (en un caso hojas y en el otro corteza de tallo).

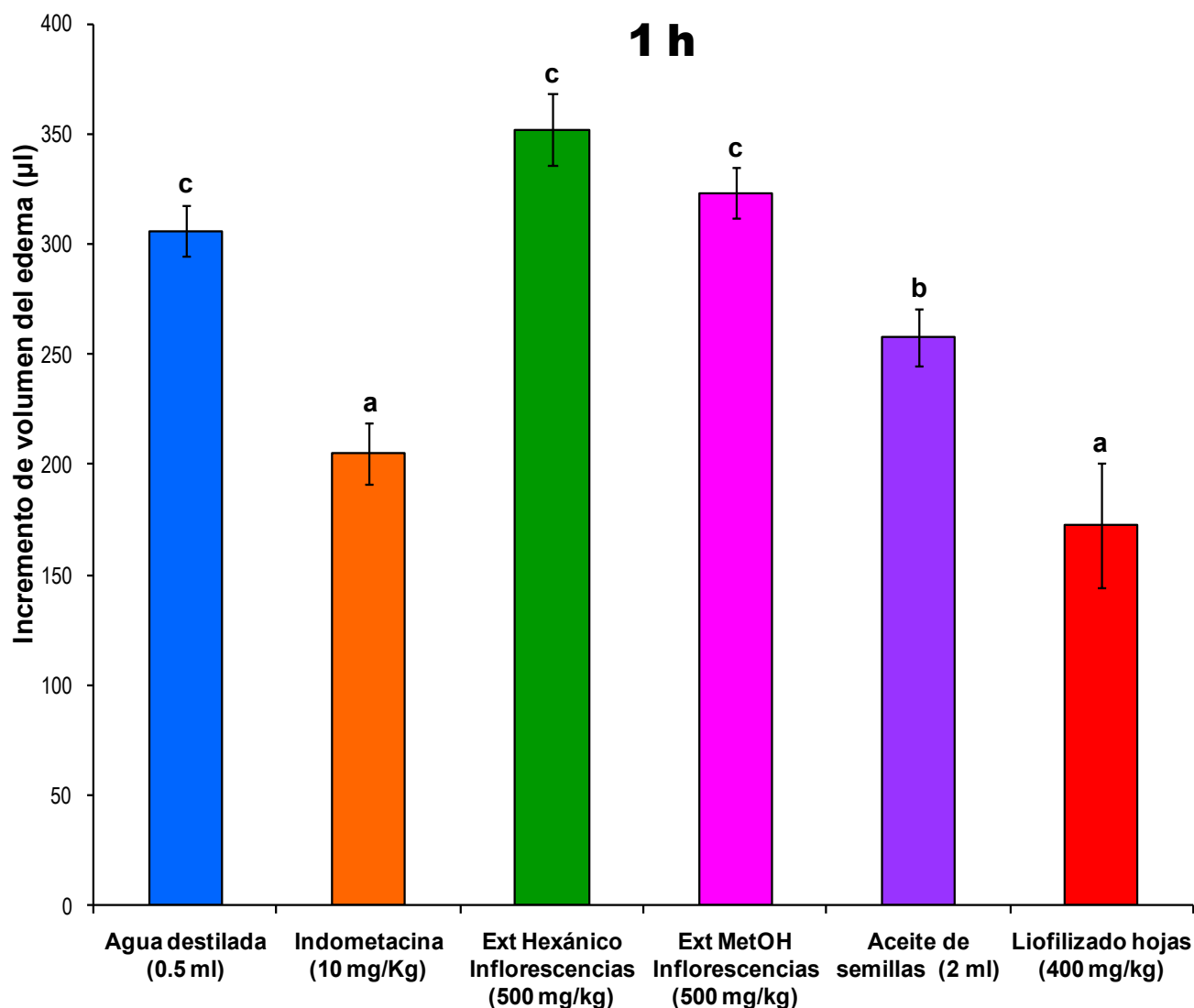


Figura 13. Edema (incremento de volumen \pm ESM) producido por el extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de *E. americana* a la 1 h posterior a la inyección de carragenina (n=7-10). Las letras indican diferencias significativas, prueba pos-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

Por otro lado, es importante resaltar que en este experimento, el liofilizado de hojas de *E. americana* tuvo un marcado efecto antiinflamatorio a la primera hora. Este hallazgo puede explicar el uso que dan a *E. americana* contra la mordedura de serpiente en la región de Acayucan, Veracruz (Ramos *et al.*, 2007). También se sabe

que en los Tuxtlas, Veracruz la infusión de *Erythrina* sp. se utiliza para tratar la mordedura de la Nauyaca (*Bothrops asper*) que habita en dicha región (comunicación personal). Generalmente, la mordedura de una serpiente provoca una lesión cutánea, seguida de la inoculación de sustancias tóxicas que lesionan los tejidos y condicionan las alteraciones fisiopatológicas de gravedad variable (Zuñiga y Caro, 2013). Es conocido que los componentes del veneno de serpiente juegan un papel en la inflamación y la hiperalgesia, dañando las paredes endoteliales, estimulando la expresión de moléculas de adhesión (LFA-1, L-selectina, ICAM-1, PECAM-1 y CD-18) en las células endoteliales y los neutrófilos (Zamuner *et al.*, 2005) estas moléculas son las responsables del movimiento de los neutrófilos hacia el área inflamada. Por lo tanto es probable que el liofilizado juegue un papel importante en la inflamación ocasionada en las etapas tempranas del daño tisular por el veneno de serpiente. Sin embargo esta propuesta debe ser probada experimentalmente.

El ANOVA de una vía realizado con los datos obtenidos 2 h después de la inyección de carragenina detectó la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{(5,49)}=19.569$, $p=0.0001$), la prueba post hoc de Duncan indicó nuevamente la formación de tres subconjuntos: Subconjunto a) indometacina (10 mg/Kg) y Aceite de semillas de *E. americana* (2 mL); Subconjunto b) Liofilizado hojas (400 mg/Kg) y Extracto Hx (500 mg/Kg) de inflorescencias de *E. americana* y Subconjunto c) Extracto MetOH (500 mg/Kg) de inflorescencias de *E. americana* y agua destilada (0.5 mL). En la **Figura 14** se observa que a partir de las 2 horas el extracto Hx de inflorescencias alcanzó volúmenes de edema intermedios y este efecto permaneció hasta las 4 h (Figura 15 y Figura 16) de la prueba y la inhibición del edema fue del 20.94% a la 2 h (**Cuadro 2**). Hasta el momento, no hay reportes sobre la actividad antiinflamatoria de extractos no polares de especies de *Erythrina*, pero podemos comparar nuestros datos con el trabajo de Boeris *et al.*, 2004 quienes evidenciaron la actividad antiinflamatoria del extracto hexánico de la parte aérea de *Salpichroa organifolia*, extracto que mostró el 18.8 % de inhibición a las 3 h. Es evidente entonces que algunos extractos no polares presentan ligera actividad antiinflamatoria. De hecho, como se indicó con anterioridad, el aceite de semillas de *E. americana* (2 mL) fue el tratamiento que disminuyó el edema a partir de la

segunda y a las 2 y 4 horas y su efecto fue similar al de indometacina, antiinflamatorio de referencia.

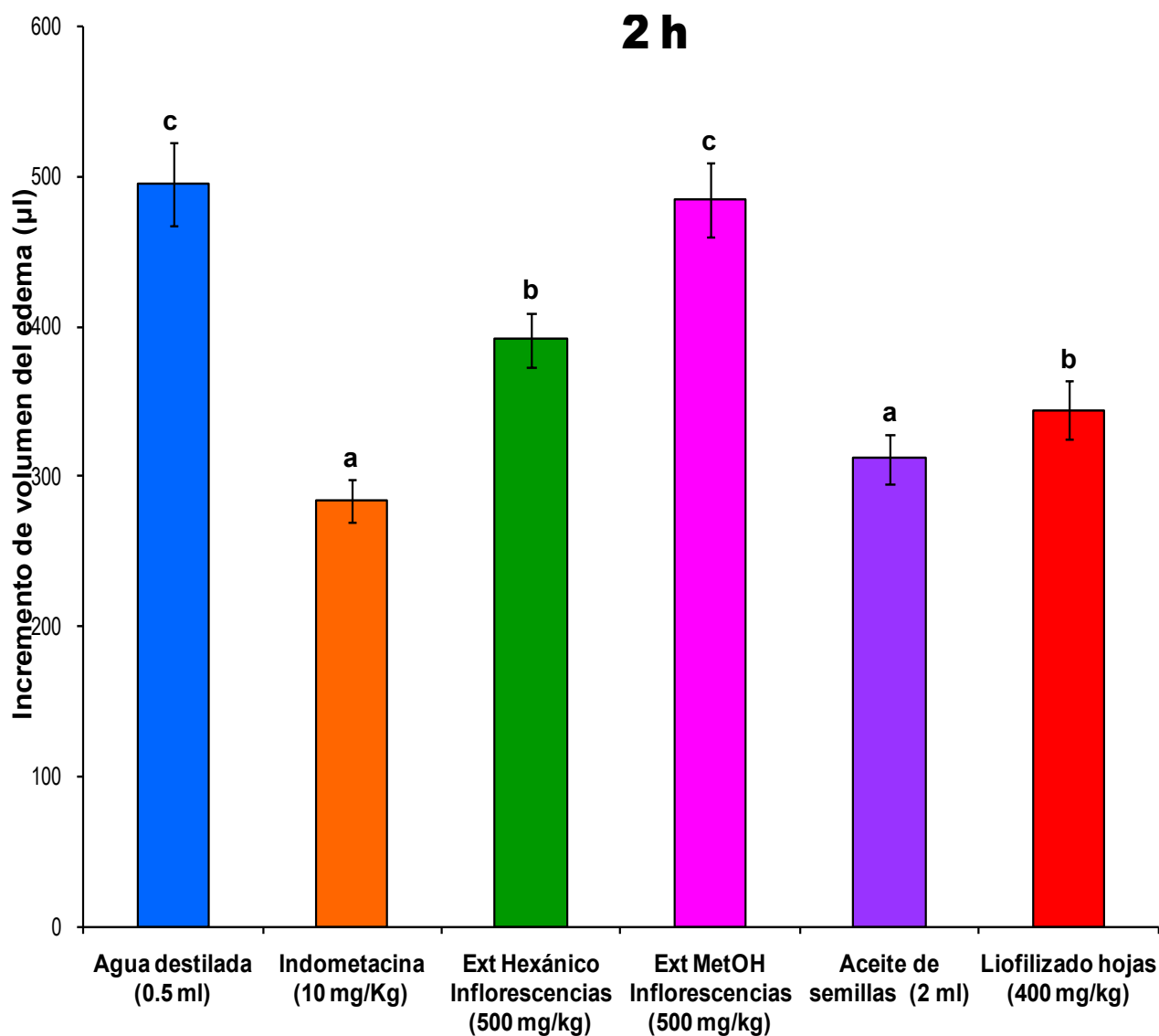


Figura 14. Edema (incremento de volumen \pm ESM) producido por el extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de *E. americana* a la 2 h posterior a la inyección de carragenina. $n=7-10$. Las letras indican diferencias significativas, prueba pos-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

En la tercera hora posterior a la inyección de carragenina, la prueba de Duncan formó cuatro subconjuntos organizados de la siguiente manera: Subconjunto a) indometacina (10 mg/Kg); Subconjunto b) Aceite de semillas de *E. americana* (2 mL); Subconjunto c) Extracto Hx (500 mg/Kg) de inflorescencias y Liofilizado hojas

(400 mg/Kg) de *E. americana* y Subconjunto d) conformado por el Extracto MetOH (500 mg/Kg) de inflorescencias de *E. americana* y agua destilada (0.5 mL). Es decir, a las 3 h el aceite de semillas (2 mL), el extracto Hx de inflorescencias y el liofilizado de hojas de *E. americana* continúan disminuyendo el edema, siendo más efectivo el aceite mostrando un valor de $344.61 \pm 13.68 \mu\text{L}$ mientras que el vehículo tuvo un valor de $506.14 \pm 16.43 \mu\text{L}$, (**Figura 15**).

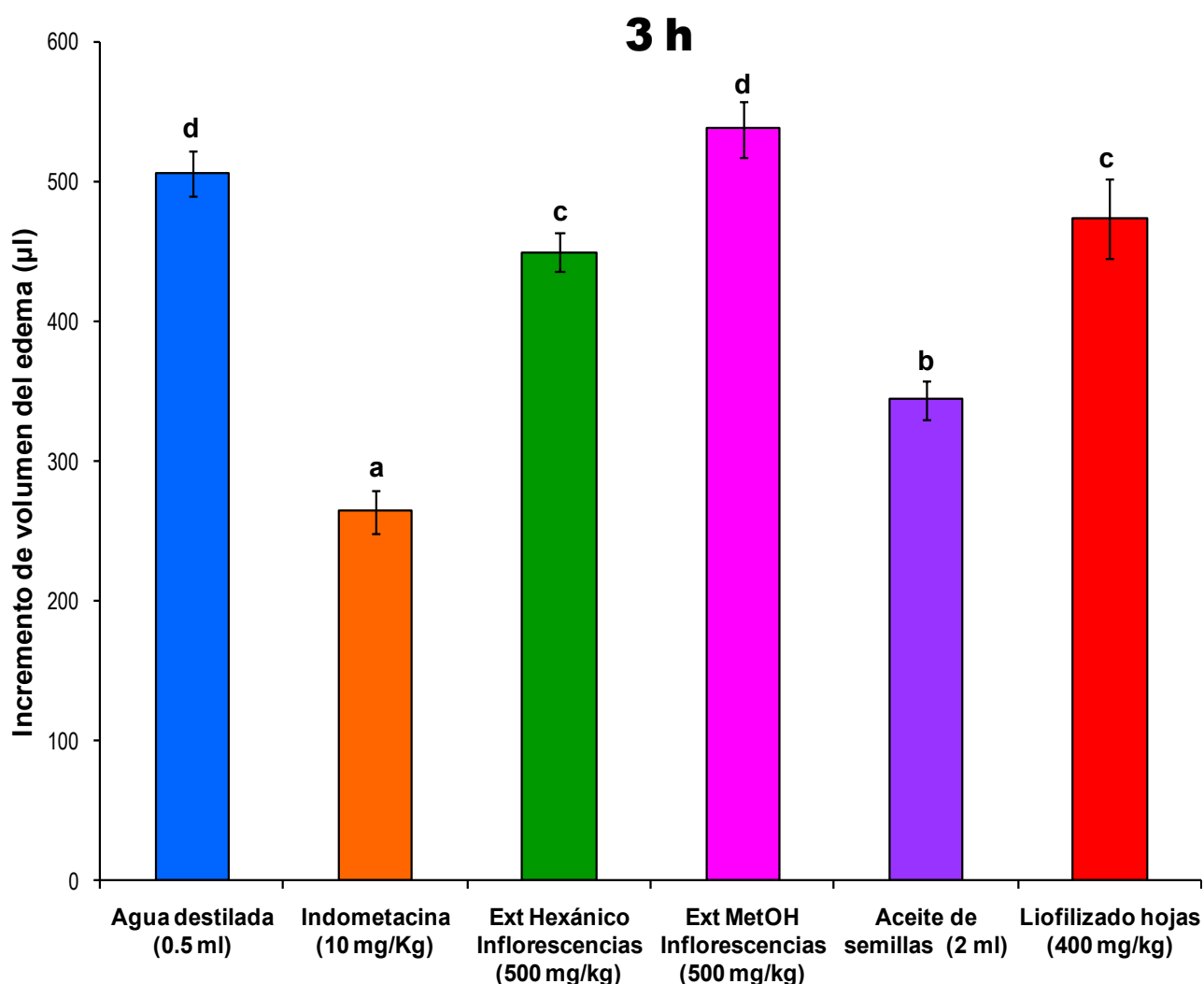


Figura 15. Edema (incremento de volumen \pm ESM) producido por el extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de *E. americana* a las 3 h posteriores a la inyección de carragenina. $n=7-10$. Las letras indican diferencias significativas, prueba pos-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

En la última hora de evaluación (4h), la prueba de Duncan organizó a los grupos en tres subconjuntos: Subconjunto a) indometacina (10 mg/Kg) y Aceite de

semillas de *E. americana* (2 mL); Subconjunto b) Extracto Hx (500 mg/Kg) de inflorescencias de *E. americana*; y Subconjunto c) integrado por agua destilada (0.5 mL), Extracto MetOH (500 mg/Kg) de inflorescencias y Liofilizado hojas (400 mg/Kg) de *E. americana*. Como se observa en la **Figura 16** el Liofilizado de hojas de *E. americana* dejó de presentar el ligero efecto antiinflamatorio que había presentado a las 3 h pero el extracto Hx de inflorescencias lo conserva y el aceite de semillas tiene un efecto antiinflamatorio similar al del fármaco de referencia. En este estudio, el extracto MetOH de inflorescencias nunca presentó efecto antiinflamatorio. Durante los cuatro tiempos de evaluación el fármaco de referencia (indometacina) mostro los valores más bajos del edema inducido con carragenina

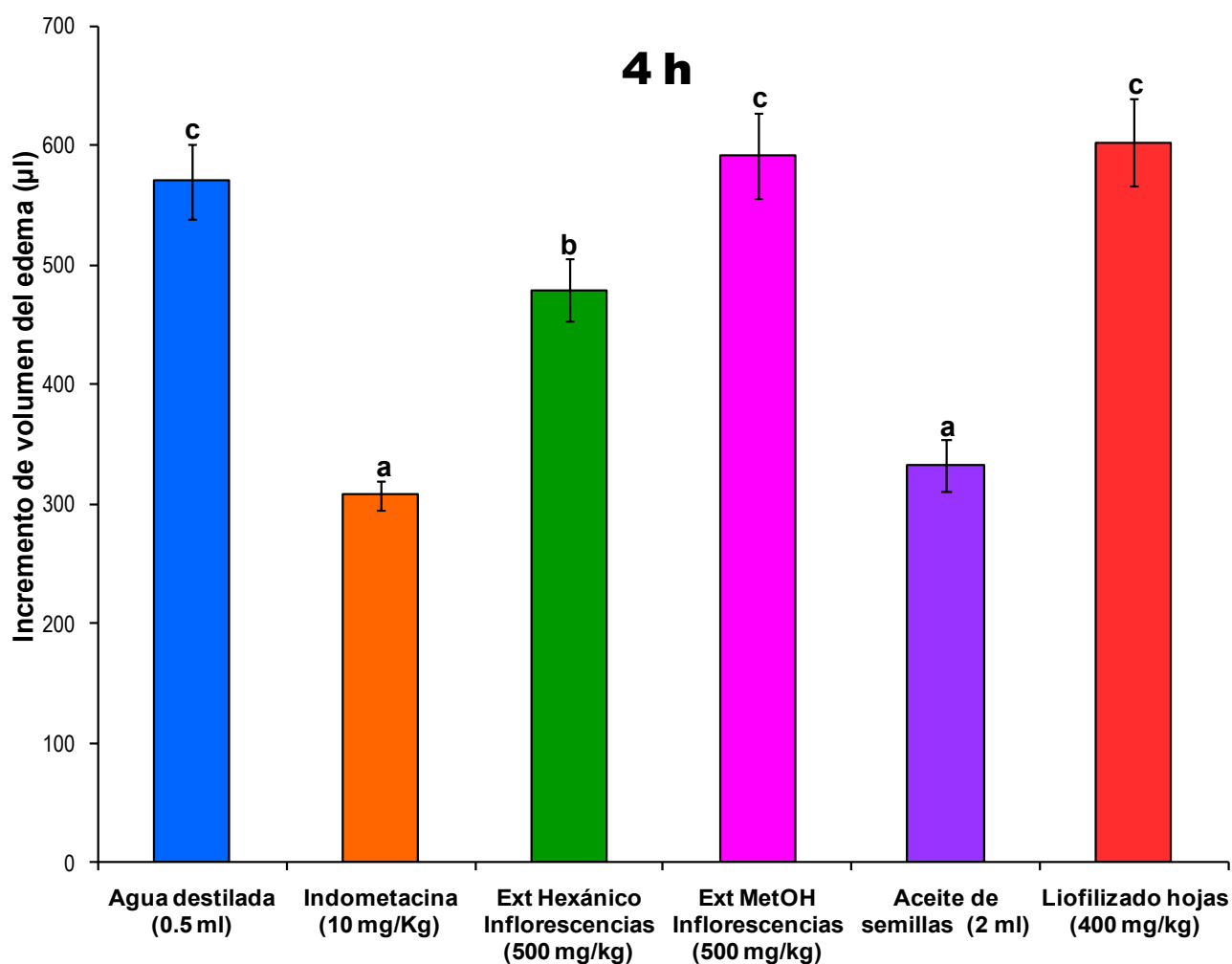


Figura 16. Edema (incremento de volumen \pm ESM) producido por el extracto hexánico, metanólico de inflorescencias y del aceite de semillas de *E. americana* a la 4 h posterior a la inyección de carragenina. n=7-10. Las letras indican diferencias significativas, prueba pos-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

El efecto antiinflamatorio de *E. americana* sobre el edema plantar inducido con carragenina es una evidencia más del potencial antiinflamatorio de especies del género *Erythrina* que se han descrito en otras investigaciones de distintos países. A pesar de que aun no existen reportes que demuestren el efecto antiinflamatorio de las semillas o inflorescencias de otras especies de *Erythrina*, se ha evidenciado que extractos de acetato de etilo de corteza de raíz de *E. mildbraedii*, hidroalcohólico de corteza de tallo de *E. mulungu* y el extracto acuoso de hojas de *E. variegata* inhiben la formación del edema plantar inducido con carragenina, efectos que posiblemente están relacionados con la inhibición de la enzima 5-lipooxigenasa así como la inhibición de la migración y activación de células polimorfonucleares, principalmente neutrófilos importantes en el desarrollo de la respuesta inflamatoria aguda inducida con carragenina (Njamen *et al.*, 2003, Vasconcelos *et al.*, 2011, Murugalakshmi *et al.*, 2014). También se ha demostrado que el extracto hidroalcohólico de corteza de tallo de *E. velutina* reduce el edema plantar inducido con dextrán (Vasconcelos *et al.*, 2011); el efecto anti edematogénico de *E. velutina* puede estar relacionado con procesos inflamatorios donde intervengan los mastocitos, ya que la producción de distintos mediadores y la desgranulación de los mastocitos están involucrados en la formación del edema plantar inducido con dextrán (Lo *et al.*, 1982)

X.4 Migración celular

La migración celular dentro de un tejido lesionado es un paso importante del proceso inflamatorio. En este experimento el modelo de migración celular se empleó para determinar, si en el efecto antiinflamatorio observado con el aceite de semillas de *E. americana* en el edema plantar inducido por carragenina, se encuentra implicada la inhibición de la migración de neutrófilos.

Al analizar el número neutrófilos que migraron a la cavidad peritoneal como consecuencia de la inyección de 3 mL de solución de carragenina (100 µg/mL), el ANOVA de un factor indicó la presencia de diferencias significativas entre los grupos $F_{(5,29)} = 155.835$, $p = 0.0001$ y la prueba de Duncan formó 4 subconjuntos: Subconjunto a) vehículo s/carragenina (0.5 mL); Subconjunto b) Aceite de semillas de *E. americana* (Aceite 3 mL) y dexametasona (1 mg/kg), Subconjunto c) formado por Aceite de semillas de *E. americana* 1 y 2 mL y Subconjunto d) vehículo c/carragenina. Esto significa que la administración oral de 3 mL de aceite de semillas de *E. americana* mostró efecto en la migración celular. En la Figura 17 se muestra el número de neutrófilos/µL dentro de la cavidad peritoneal contabilizados 4 horas después de la administración (i.p.) de carragenina. Cada grupo de animales había recibido (v.o.) previamente uno de los 6 tratamientos. Como era de esperarse, el grupo que recibió agua destilada (vehículo para el fármaco de referencia dexametasona) sin la administración de carragenina, mostró la menor cantidad de neutrófilos (567.30 ± 37.52), mientras que el que recibió agua destilada más carragenina presentó el mayor número de neutrófilos en la cavidad peritoneal ($2,778.66 \pm 72.81$). El grupo que recibió 3 mL de aceite de semillas y se inyectó con carragenina registró un contenido de neutrófilos similar al grupo que recibió dexametasona (1318.10 ± 57.66 y 1443.36 ± 21.33 , respectivamente). Finalmente, el número de neutrófilos que migraron a la cavidad peritoneal cuando se administraron 1 ó 2 mL de aceite de semillas más carragenina no difirió entre ellos (1914 ± 55.02 y 1743.12 ± 84.11); pero los valores fueron inferiores a los contabilizados en el grupo de vehículo más carragenina.

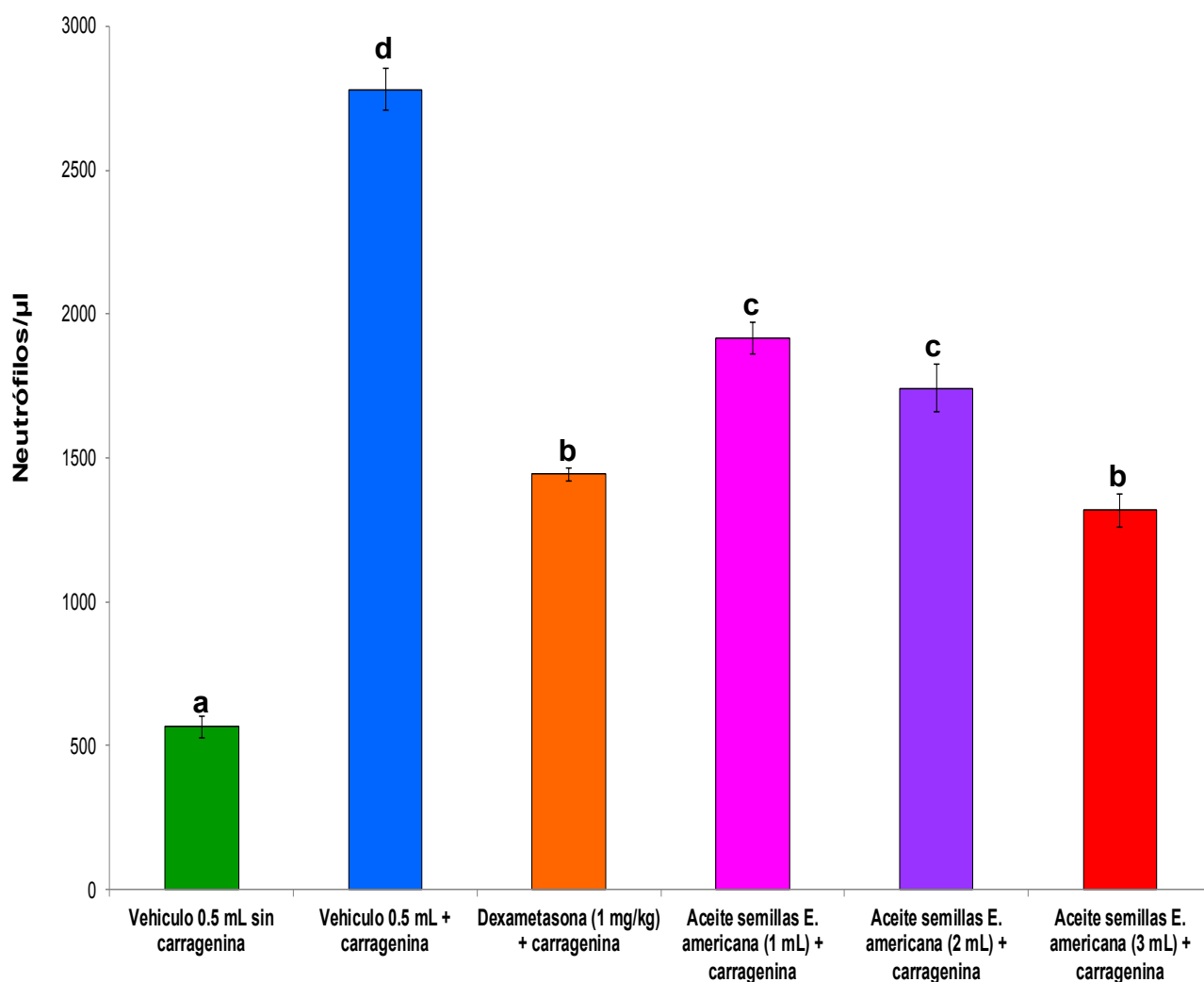


Figura 17. Efecto del aceite de semillas de *Erythrina americana* en tres dosis sobre la migración de neutrófilos en la cavidad peritoneal inducida por carragenina. Las letras indican diferencias significativas, prueba pos-hoc de Duncan, $p < 0.05$.

En el **Cuadro 3** se muestran los porcentajes inhibitorios de la migración de neutrófilos de las dosis ensayadas del aceite de semillas de *E. americana*. El mayor porcentaje de inhibición se observó con la dosis de 3 mL del aceite de semillas de *E. americana* con un 52.56%, mientras que con las dosis de 1 mL y 2 mL se alcanzaron porcentajes de inhibición de la migración de neutrófilos de un 21.12% y 37.27% respectivamente. Con el fármaco de referencia dexametasona se observó un 48.06% de inhibición de la migración de neutrófilos.

Grupo	% inhibitorio de la migración de neutrófilos
Control (agua + carragenina)	-----
Dexametasona (1 mg/kg)	48.06%
Aceite semillas (1 mL)	31.12%
Aceite semillas (2 mL)	37.27%
Aceite semillas (3 mL)	52.56%

Cuadro 3. Porcentaje inhibitorio de la migración de neutrófilos con el aceite de semillas de *E. americana*. 4 h después de la inyección i.p. de carragenina.

En el modelo de migración celular, la inyección de carragenina dentro de la cavidad peritoneal induce una respuesta inflamatoria aguda, caracterizada por la acumulación de fluido en la cavidad peritoneal con un gran número de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos), esto conduce a la peroxidación de lípidos y al aumento de la producción de la prostaglandina E2, productos intermediarios de oxígeno reactivo, y citoquinas tales como TNF- α e IL-1 β (Di Paola *et al.*, 2004).

En este experimento, los resultados de migración celular muestran que el grupo de animales control (que recibieron v.o. agua destilada y que una hora después se les inyectó v.i. carragenina), presentaron el mayor incremento de neutrófilos 4 h después de la inyección del irritante. Estos resultados eran esperados y están de acuerdo con lo reportado por otros grupos de investigación que empleando este modelo alcanzaron un número máximo de la migración de neutrófilos en los grupos control 4 h después de la inyección de carragenina en la cavidad peritoneal (Freitas *et al.*, 2006; Murugan y Parimelazhagan, 2013). Y en este

estudio, el aceite de semillas de *E. americana* (1, 2 y 3 mL) tiende a reducir la migración de neutrófilos hacia la cavidad peritoneal.

Se ha reportado la reducción de la migración celular con extractos y fracciones de *E. mulungu*. Sin embargo en ese estudio, la actividad de *E. mulungu* sobre la migración celular se evaluó empleando el modelo de peritonitis inducida por Zymosan, mismo que se caracteriza por promover la desgranulación de mastocitos y la activación de macrófagos mediante el agente irritante (de Oliveira *et al.*, 2011); en contraste, el agente irritante carragenina promueve la migración de leucocitos, principalmente neutrófilos. Por lo que esta investigación es el primer informe sobre la inhibición de la migración celular hacia la cavidad peritoneal con la especie *E. americana*.

Los extractos no polares y de mediana polaridad obtenidos de hojas de *E. crista-galli* (diclorometánico), *E. stricta* (etanólico) y *E. variegata* (etanólico) exhibieron una reducción máxima del edema en las 3 h posteriores a la inyección del agente irritante; el efecto de *E. crista galli*, *E. stricta* y *E. variegata* está relacionado con la síntesis de prostaglandinas, las cuales se presentan durante la fase tardía (3-4 h) del edema plantar inducido con carragenina (Miño *et al.*, 2002, Subhashini *et al.*, 2011, Mantena y Tejaswani, 2015). Por el contrario, el marcado efecto del liofilizado de hojas de *E. americana* en la reducción del edema en la 1 h posterior a la inyección de carragenina puede estar asociado a la reducción de la migración celular principalmente de leucocitos polimorfonucleares presentes en la fase temprana (1-2 h) de la formación del edema; esta hipótesis deberá ser comprobada en futuras investigaciones. Cabe mencionar que recientemente, en el laboratorio, el liofilizado de hojas se sometió a un análisis de HPLC mostrando la presencia de flavonoides como: apigenina, rutina, florizidina, miricetina, quercetina y galanginina que podrían ser los compuestos responsables del efecto antiedema observado aquí con el liofilizado de hojas; ya que a algunos de ellos se les ha demostrado actividad antiinflamatoria. Se ha señalado que la quercetina puede estabilizar las membranas de las células que liberan la histamina, reduciendo su liberación y también afectan la síntesis de leucotrienos (Martínez, 2005); apigenina disminuye la agregación

plaquetaria, la acumulación de leucocitos y la síntesis de PGE₂ (Landolfi *et al.*, 1974; Middleton *et al.*, 2000), mientras que miricetina redujo el edema plantar inducido con carragenina y el edema auricular inducido con aceite de crotón (Gabor y Razga, 1991). Por ello es importante el aislamiento de los flavonoides presentes en el liofilizado de hojas de *E. americana* para evaluar su actividad antiinflamatoria. Por otro lado, recientes estudios de cromatografía en capa fina con el aceite de las semillas detectaron la presencia de flavonoides.

La actividad antiinflamatoria reportada para distintas especies del género *Erythrina* por lo general es asociada a la presencia de flavonoides ya que son potentes inhibidores de las enzimas ciclooxigenasa y la 5-lipooxigenasa, enzimas importantes para la síntesis de los distintos mediadores químicos de la inflamación (Bruneton, 2001). Se demostró que el pterocarpano erycristagalina (isoflavonoide) aislado de *E. mildbraedii* inhibió la formación del edema plantar inducido por fosfolipasa A₂, así como las flavanonas Sigmoidin A y Sigmoidin B de *E. sigmoidea* evidenciaron su efecto sobre la inhibición del edema plantar inducido por fosfolipasa A₂ y el edema auricular con TPA (Njamen *et al.*, 2003, 2004), mientras que el flavonoide prenilado Abyssinona V-4´metil éter aislado de *E. droogmansiana* inhibió de manera dosis dependiente la formación de edema plantar inducido con carragenina (Sokeng *et al.*, 2013). El efecto que presentó el extracto hexánico de inflorescencias así como el aceite de semillas de *E. americana* en el edema plantar inducido con carragenina posiblemente se deba a la presencia flavonoides, por lo que se debe realizar un preliminar fitoquímico en ambas muestras para elucidar los compuestos presentes en cada una de ellas y posteriormente llevar a cabo su aislamiento para su evaluación farmacológica.

Este estudio constituye la primera evidencia experimental del potencial antiinflamatorio de *Erythrina americana*. Adicionalmente, también sustenta y permite explicar el uso de esta especie mexicana como antiinflamatorio en la medicina tradicional.

XI. CONCLUSIONES

- El presente trabajo constituye el primer reporte experimental sobre la actividad antiinflamatoria de *Erythrina americana*.
- El liofilizado de hojas de *Erythrina americana* redujo el edema plantar inducido con carragenina una hora después de la inyección del agente irritante.
- El aceite de semillas de *Erythrina americana* redujo el edema plantar inducido con carragenina en todos los tiempos de evaluación, efecto también relacionado con la reducción de la migración de neutrófilos.
- Los flavonoides pueden ser los metabolitos secundarios responsables de la actividad antiinflamatoria observada en *E. americana*.
- Esta investigación aporta elementos experimentales que explican el uso empírico de *E. americana* para el tratamiento de padecimientos relacionados con la inflamación.

XII. PERSPECTIVAS

- Concluir con el análisis preliminar fitoquímico y la cromatografía en columna del aceite de semillas de *E. americana*.
- Purificación y aislamiento de los compuestos del aceite de semillas de *E. americana* relacionados con su efecto antiinflamatorio.
- Purificación y aislamiento de los flavonoides presentes en el liofilizado de hojas de *E. americana* y evaluar su efecto antiinflamatorio.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar J., P. Rojas., A. Plaza., R. Bauer., E. Reininger., C. Klass., Y I. Merfort. (2002). Anti-inflammatory activity of two different extracts of *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 81, 271-276.
- Argueta, A., Cano, L., Rodarte, M. (1994). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana I*. 1ª edición, Biblioteca de la medicina tradicional mexicana.
- Avello, M., Cisternas, I. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Rev. Med. Chile*, 138, 1288-1293.
- Báez, G. (2007). Determinación del efecto antiinflamatorio de los extractos hexánicos, etanólicos y clorofórmicos de las plantas medicinales: *Bursera aloexylon*, *Amphypteryngium adstringens*, *Tila mexicana*, *Verbascum thapsus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia hispanica*, *Aloe vera*, *Opuntia ficus-indica* en un modelo animal. Tesis que para optar el título en Maestría en Biomedicina Clínica, Universidad de las Américas Puebla, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Cholula, Puebla, México
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. 2009. Consultado el 20 de febrero de 2016 en <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>.
- Boeris, M., Toso, R., Skliar, M. (2004). Actividad Antiinflamatoria de *Salpichroa origanifolia*. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23(2), 138-141.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*. (2ª Ed) Editorial ACRIBIA, S.A. ZARAGOZA. España. pp. 320.
- Cañigüeral, S., Dellacassa, E., Bandoni, A. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Acta Farmacéutica Bonarense*, 22(3), 265-278.
- Chiclana, C., Enrique, A., Consolini, A. (2009). Actividad antiinflamatoria local de *Malva sylvestris* L. (Malvaceae) en el edema inducido por carragenina en ratas. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28(2), 275-278.

- Clark, G; Brater, C; Johnson, A. (1993). *Goth Farmacología Médica*. (13^a Ed.). Editorial Mosby. pp. 327, 356, 358, 532-534.
- Contreras, A., y C. Zolla. (1982). *Plantas toxicas de México*. Instituto del Seguro Social, México.
- Croteau, R., Kutchan, T., Lewis, N. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). En B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones (Eds.), *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. pp. 1250.
- De Oliveira, M., De Aquino, A., Da Silva, D., Aquino, Pedro., Santos, M., Porfírio, A., Sant'Ana, A., Santos, B., Alexandre-Moreira, M., De Araújo-Júnior, J. (2011). Antinociceptive and anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts and fractions from *Erythrina mulungu*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 22(1), 157-161.
- Di Paola, R., Di Marco, R., Mazzon, E., Genovese, T., Bendtzen, K., Macri, Battesimo., Nicoletti, F., Cuzzocrea, S. (2004). Prevention of carrageenan-induced pleurisy in mice by anti-CD30 ligand monoclonal antibody. *Clinical Immunology*, 113, 64-73.
- Eddouks, M., Chattopadhyay, D., Zeggwagh, N. (2012). Animal Models as Tools to Investigate antidiabetic and Anti-Inflammatory Plants. *Evidence-Based Complementary and alternative Medicine*, 2012, 1-15.
- Esplugues, J., Barrachina, M. (2003). Mediadores celulares II. Eicosanoides, óxido nítrico y factor activador de plaquetas. En J. Flórez (Ed.), *Farmacología Humana* (pp. 361-362). España.
- Feria, M. (2003). Fármacos analgésicos, antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. En J. Flórez (Ed.), *Farmacología Humana*. (pp. 376-377). España.
- Fernández, F., Torres, M. (2004). Inflamación y plantas medicinales.
- Flórez, J. (2003). Esteroides corticales y antiinflamatorios esteroideos. En J. Flórez (Ed.), *Farmacología Humana*. (pp. 923). España.
- Flórez, J; Armijo, J; Mediavilla A. 1992. *Farmacología Humana*. (4^a Ed.). Ediciones Científicas y Técnicas.

- Freitas, A., Alves-Filho, J., Secco, D., Neto, A., Ferreira, S., Barja-Fidalgo C., Cunha, F. (2006). Heme oxygenase/carbon monoxide-biliverdin pathway down regulates neutrophil rolling, adhesion and migration in acute inflammation. *British Journal of Pharmacology*, 149, 345-354.
- Gabor, M., Razga, Z. (1991). Effect of benzopyrone derivatives on simultaneously induced croton oil ear edema and carrageenan paw edema in rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 77(3), 197–207.
- García de Lorenzo, A., López, J., Sánchez, M. (2000). Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. *Medicina Intensiva*, 24, 353-360.
- García, P. (2008). Inflamación. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 102(1), 91-159.
- Gil, J., Gómez, M., Trejos, J. (2009). Citotoxicidad y actividad anticancerígena de dos flavonoides aislados y purificados de *Brownea ariza* Brenth. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 16(1), 93-101.
- Goldfien, A. (1996). Adrenocorticosteroides y antagonistas adrenocorticales. En K. Bertram (Ed.), *Farmacología básica y clínica*. (pp. 719-737). México.
- Gómez, H., González, K., Medina, J. (2011). Actividad antiinflamatoria de Productos Naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(3), 182-217.
- González, J., Fariñas, C. Inflamación. (2004). En J. García, J. Merino, y J. González (Eds.), *Patología General Semiología Clínica y Fisiopatología*. (pp 127-136). España.
- González, K., Vélez, H., Nuevas, L., Márquez, L., Garrido, G., González, J. (2008). Aislamiento y efecto antiinflamatorio de un alcaloide de *Zanthoxylum elephantiasis* Macf (Rutaceae) introducida en Cuba. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 7(5), 264-267.
- Guerrero, M. (2009). Elementos para la evaluación eficaz de productos naturales con posibles efectos antihipertensivos. *Biomédica*, 29, 547-557.
- Guyton, A. 1989. *Tratado de Fisiología Médica*. (7ª Ed.). México: McGraw Hill.
- Hastings, R. (1990). Medicinal Legumes of México: Fabaceae, Papilionoideae, Part One. *Economic Botany*, 44(3), 336-348.

- Horwat, R., Martínez, G., Cuéllar, A., Palazzo, J. (2001). Control de calidad y actividad antiinflamatoria de las drogas vegetales *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze y *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. *Acta Farmacológica Bonaerense*, 20(1), 39-46.
- Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., Aster, J. (2010). *Patología estructural y funcional*. (8ª Ed.). España.
- Landolfi, R., Nower, R., Y Steiner, M. (1984). Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids: Structure-activity relations. *Biochem Pharmacol*, 33, 1525–1530.
- Lee, J., Katayama, S. (1993). Inflamación y fármacos antiinflamatorios no esteroideos. En D. Smith, A. Reynard. *Farmacología*. (pp 393-423). Buenos Aires: Médica Panamericana
- Linares, N. (2013). *Plantas Medicinales, cuaderno de trabajo*. Madrid: Centro de Empresas Loeches.
- Lo, T., Almeida, A., Y Beaven, M. (1982). Dextran and carrageenan evoke different inflammatory responses in rat with respect to composition of infiltrates and effect of indomethacin. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 221(1), 261-267.
- López, A., Moreno, L., Villagrasa, V. (2006). *Manual de Farmacología: guía para el uso racional del medicamento*. España: Elsevier. Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=N6Ps8u0zHtQC&pg=PA122&lpg=PA122&dq=Farmacologia+corticosteroides&source=bl&ots=thxzm6Q0xM&sig=uvwKkQCd3-l4QIMQCWbs-CZVXsl&hl=es&ei=bvdeTp2XK-_HsQLU4bUV&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2&ved=0CBwQ6AEwATgK#v=onepage&q&f=false.
- López, M. (2003). Plantas medicinales antiinflamatorias utilizadas en el tratamiento del reumatismo. *Fitoterapia*, 22, 118-122.
- Mantena, V., Tejaswini, G. (2015). Anti-inflammatory activity of *Erythrina variegata*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 386-388.

- Martínez, A. (2005). *Flavonoides*. Facultad de Química Farmacéutica. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Meckes, M., David-Aguilar, A., Nava-Aguilar, V., Y Jiménez, A. (2004). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine*, 11, 446-451.
- Mendoza, N. (2008). *Farmacología Médica*. México: Editorial Médica Panamericana.
- Middleton, E., Kandaswami, C., Y Theoharides, T. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- Miño, J., Gorzalczany, S., Moscatelli, V., Ferraro, G., Acevedo, C., Y Hnatyszyn, O. (2002). Actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. ("Ceibo"). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 21(2), 93-98.
- Mitchell, R., Cotran, R. (1999). Inflamación aguda y crónica. En V. Kumar, R. Cotran, y S. Robbins (Eds.), *Patología Humana* (pp. 27-50). (6ª Ed.). México.
- Murphy, H., Ward, P. (2006). Inflamación. En Rubin, E., Gorstein, F., Schwarting, R., Rubin, R., Strayer, D. (Eds), *Rubin: Patología estructural Fundamentos Clinicopatológicos en Medicina* (pp. 40-77). España.
- Murugalakshmi, Mari, J., Thangapandian, V. (2014). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Erythrina variegata* leaves extracts. *Journal of Advanced Botany and Zoology*, 2(2), 1-5.
- Murugan, R., Parimelazhagan, T. (2013). Study of anti-nociceptive, anti-inflammatory properties and phytochemical profiles of *Osbeckia parvifolia* Arn. (Melastomataceae). *Industrial Crops and Products*, 51, 360-369.
- Neil, D. (1988). Experimental studies on species relationships in *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 73(3), 886-969.
- Njamen, D., Talla, E., Tanyi, J., Tanee, Z., Kamanyi, A., Mbanya, JC., Cerdá, M., Giner, R., Recio, M., Y Ríos, J. (2003). Anti-inflammatory activity of erycristagallin a pterocarpene from *Erythrina mildbraedii*. *European Journal of Pharmacology*, 468, 67-74.

- Njamen, D., Tanyi J., Tanee, Z., Kamanyi, A., Mbanya J., Recio, M., Giner, R., Máñez, S., Y Ríos, J. (2004). Anti-Inflammatory activities of two flavanones, Sigmoidin A and Sigmoidin B, from *Erythrina sigmoidea*. *Planta Medica*, 70(2), 104-107
- Noa, M., Más, R., Mendoza, S., Y Valle, M. (2011). Fisiopatología, tratamiento y modelos experimentales de artritis reumatoide. *Revista Cubana de Farmacia*. 45(2), 297-308.
- Ocegueda, S., Moreno, E., Y Koleff, P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas*, 62, 12-15.
- Ouviña, A., Gorzalczany, S., Acevedo, C., Y Ferraro, G. (2009). Actividad antiinflamatoria tópica de extractos de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Apiaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(6), 941-944.
- Parimelazhagan, T. (2016). *Pharmacological Assay of Plant-Based Natural Products. Progress in Drug Research, volume 71*. Switzerland: Springer International Publishing:
- Parslow, T. (1996). Fagocitos: Neutrófilos y macrófagos. En D. Stites, A. Terr, T. Parslow (Eds.), *Inmunología básica y clínica* (pp. 13). México.
- Pascual-Villalobos, M. (1996). Evaluación de la actividad insecticida de extractos vegetales de *Chrysanthemum coronarium* L. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 22, 411-420.
- Patel, M., Murugananthan., Y Gowda, S. (2012). In vivo models in preclinical evaluation of anti-Inflammatory activity A Review. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 1, 01-05.
- Payan, D., Katzung, B. (1996). Antiinflamatorios no esteroideos; analgésicos no opioides; anti urémicos. En K. Bertram (Ed.), *Farmacología básica y clínica* (pp 651-677). México.
- Pérez, R. (2007). Patología General de la Inflamación. En R Pérez. E López. (Eds), *Principios de Patología* (pp 37-47). Buenos Aires.
- Pillay, C., Jäger, A., Mulholland, D., Y van Staden, J. (2001). Cyclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 231-237.

- Pingsusaen, P., Kunanusorn, P., Khonsung, P., Chiranthanut, N., Panthong, A., Y Rujjanawate, C. (2015). Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. *Journal Ethnopharmacology*, 162, 199-206
- Pino, S., Prieto, S., Pérez, M., Y Molina, J. (2004). Género *Erythrina*: Fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23(2), 252-258.
- Puente, J. (2005). Inflamación e inmunología. En A Ferreira. A Afani. P Lanza. J Aguilon. Y C. Sepúlveda (Eds.), *Inmunología Básica y Clínica* (pp. 151-165). Chile: Mediterráneo Ltda.
- Qnais, E., Abu-Safieh, K., Abu-Dieyeh, M., Y Abdulla, F. (2009). Antinociceptive Effect of Two Flavonoids from *Aloysia triphylla* L. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 2(4), 167-170.
- Ramos, M., Ávila, C., Y Morales, J. (2007). Etnobotánica y ecología de plantas utilizadas por tres curanderos contra la mordedura de serpiente en la región de Acayucan, Veracruz, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 81, 89-100.
- Rang, H., Dale, M. (2008). *Farmacología*. España: Elsevier..
- Ratheesh, M., Helen, A. (2007). Anti-inflammatory activity of *Ruta graveolens* Linn on carrageenan induced paw edema in wistar male rats. *African Journal of Biotechnology*, 6(10), 1209-1211.
- Rathisre, P., Mohan, R. Y Murugesan, K. (2013). *In vitro* anti-inflammatory activity of methanolic root extract of *Erythrina indica* Lam. *International Journal of Reserch in Chemistry and Enviroment*, 3(4), 48-51.
- Saidu, K., Onah, J., Orisadipe, A., Olusola, A., Wambebe, C., Y Gamaniel, K. (2000). Antiplasmodial, analgesic, and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem bark of *Erythrina senegalensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 257-280.
- Sánchez, S., Soto, R., Kite, G., Y García, M. (2001). Identificación de alcaloides en las inflorescencias de *Erythrina americana* Miller. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 7(1), 37-48.

- Shires, T. (1991). Antiinflamatorios. En P. Conn, G. Gebhart. *Principios de Farmacología* (pp 325). México.
- Shreve, F., Wiggins, L. (1998). *Vegetation and Flora of the Sonora Desert, Volume One*. California.
- Sistema Nacional de Información en Salud. (2008). *Boletín de información estadística. Volumen II. Daños a la salud, numero 28*. Consultado el 23 de agosto de 2011. Pagina web activa <http://www.sinais.salud.gob.mx/egresoshospitalarios/publicaciones.html>.
- Sociedad Cubana de Farmacología. (2001). *Taller Nacional sobre Inflamación: Memorias (Orogramas y Resúmenes)*. Escuela Latinoamericana de Medicina. ISBN. 956-16-124-7.
- Sociedad Española de Reumatología. (2009). *Los Antiinflamatorios no esteroideos en Reumatología*. Consultado el 26 de agosto de 2012, activa <http://www.ser.es/ArchivosDESCARGABLES/Folletos/27.pdf>.
- Sokeng, S., Talla, E., Jeweldai, V., Yaya, A., Koube, J., Dongmo, F., Goulimé, M., Y Mbafor, J. (2013). Anti-inflammatory effect of *Abyssinona v-4'-methyl ether* on acute and chronic inflammation models. *Hygeia: Journal for Drugs and Medicines*, 5(1), 121-128.
- Souza, G., Ferreira, S. (1985). Blockade by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity. *Agents and Actions*, 17(1), 97-103.
- Springer, T. (1995) Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*;76, 301- 314.
- Subhashini, N., Purnima, S., Amuntha, J., Thanga, A., Y Lavanya, N. (2011). Anti-Inflammatory activity of *Erythrina stricta* Roxb. in Albino Rats. *International Journal of PharmTech Research*, 3(2), 1014-1018.
- Terr, A. (1996). Inflamación. En D. Stites, A. Terr, Y T. Parslow (Eds.), *Inmunología básica y clínica* (pp. 176). México: El Manual Moderno, S.A. de C.V.
- Tortora, G., Anagnostakos, N. (1989). *Principios de Anatomía y Fisiología*. (5ª Ed.). México: Harla.

- Trounce, J., Gould, D. (1993). *Manual de Farmacología Clínica*. (13ª Ed.). México: McGraw Hill.
- Vander, A., Sherman, J., Y Luciano, D. (1978). *Fisiología Humana*. (1ª Ed.). México: McGraw Hill.
- Vasconcelos, S., Sales, G., Lima, N., Lobato, R., Silveira, D., Barbosa-Filho, J., Kalyne, L., Leal, A., Fonteles, M., Sousa, F., Lima, J., Y Viana, G. (2011). Anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *E. mulungu* in mice. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 21(6), 115-1158.
- Vázquez, B., Avila, G., Segura, D., Y Escalante, B. (1996). Antiinflammatory activity of extracts from *Aloe vera* gel. *Journal of Ethnopharmacology*, 55, 69-75.
- Vick, R. (1987). *Fisiología Medica Contemporánea*. (1ª Ed.) México: McGraw Hill.
- Villareal, M., Cardoso-Taketa, A., Ortiz, A., Y Sharma, A. (2014). Biotecnología para producir medicinas de plantas mexicanas. *Revista Digital Universitaria*, 15(8), 1-15.
- Vinegar R., Schreirber, W., Y Hugo, R. (1968). Biphasic development of carrageenin edema in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 166(1), 96-103.
- Waxman, K. 1996. *What mediates tissue injury after shock*. *New Horizons*, 4, 151-317.
- Zamuner, S., Zuliani, J., Fernandes, C., Gutiérrez, J., Y Teixeira, C. (2005). Inflammation induced by *Bothrops asper* venom: release of proinflammatory cytokines and eicosanoids, and role of adhesion molecules in leukocyte infiltration. *Toxicon*, 46, 806–813.
- Zuñiga, I., Y Caro, J. (2013). Aspectos clínicos y epidemiológicos de la mordedura de serpiente en México. *Evidencia Médica e Investigación en Salud*, 6(4), 125-136.

XIV. ANEXO FICHAS

ANEXO 1

➤ Modelos para el estudio de la inflamación

Métodos *in vivo* o ensayos *in vitro* se han desarrollado en el estudio de sustancias con actividad antiinflamatoria. Por lo general, el método *in vitro* está dirigido a conocer el perfil farmacodinámico del producto bioactivo basados en las acciones moleculares del mismo; mientras que los modelos animales se han utilizado ampliamente para investigar la eficacia, establecer el mecanismo de acción y los efectos secundarios *in vivo* de nuevos medicamentos antiinflamatorios.

Ríos *et al.* (2004) precisan que para evaluar la actividad antiinflamatoria *in vivo* se dispone de modelos que varían en la intensidad de la reacción (**Figura 18**), estos pueden ser A) Modelos de inflamación aguda y B) Modelos de inflamación subcrónica o crónica. Los autores precisan que para la inducción de la reacción inflamatoria, el agente irritante varía en función al modelo que se va a emplear, entre tales agentes se encuentran el ácido araquidónico (AA), acetato de tetradecainolforbol (TPA), serotonina (5-HT), histamina, carragenina, bradicinina (BK), fosfolipasa A₂ (PLA₂), entre otros. Unos de aplicación tópica y otros de empleo parental. Otros agentes irritantes que permiten el conocimiento más selectivo de la forma de actuar de la sustancia objeto de estudio, como por ejemplo bradicinina, histamina y xileno, que provocan una inflamación de origen neurogénico, mientras que el empleo de fenilpropiolato de etilo permite estudiar agentes antiinflamatorios con un largo periodo de latencia, como los corticosteroides.

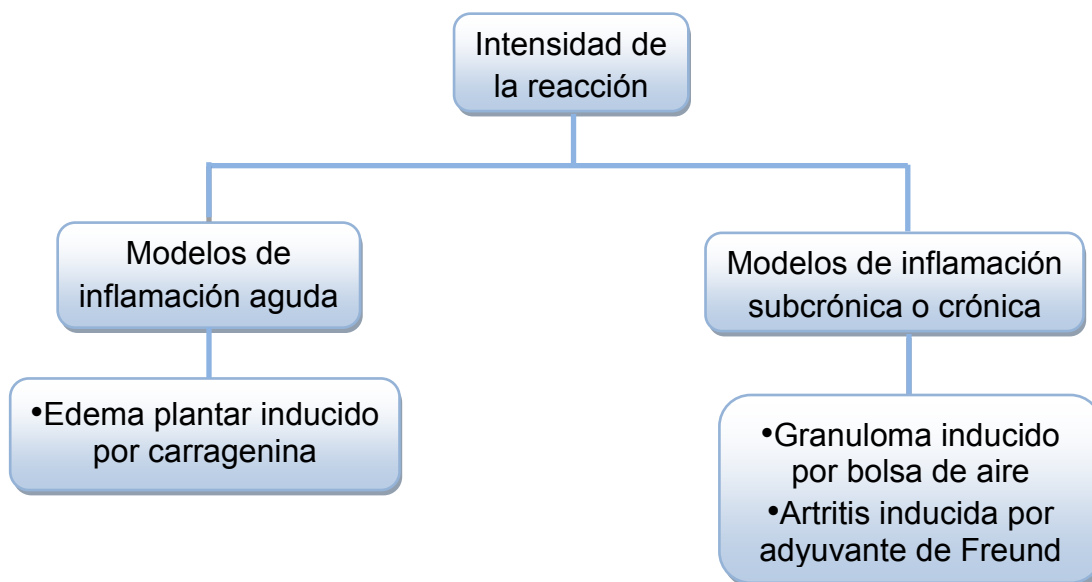


Figura 18. Modelos para el estudio de la inflamación propuestos en Ríos *et al.* (2004)

➤ Modelo de edema plantar en rata inducido por Carragenina

Uno de los modelos de mayor aplicación para la evaluación de plantas o fármacos que puedan tener cierta actividad antiinflamatoria es el de edema plantar inducido por carragenina (un mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondus crispus*). En este modelo, la administración subcutánea de una solución de carragenina ocurre a nivel de la aponeurosis plantar de rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio agudo mediada por la liberación de diversos autocoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas); además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar (natural o sintético) se puede administrar vía intraperitoneal, oral, etc.

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. Aproximadamente de una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase está mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2). La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la

fase mediada por las prostaglandinas. La extravasación de proteínas ocurre durante toda la respuesta al agente edematógeno. La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente.

Es muy importante la estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. Se prefiere la carragenina ante otros irritantes porque el edema producido está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y, además, porque la actividad antiinflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad antiinflamatoria en clínica (Giraldéz, 2001 en Báez 2007).

ANEXO 2

➤ *Erythrina americana* Miller

a) Nombres comunes

Cáscara de chomplantle, chocolín, colorín grande, equimite, pichoco, piñón espinoso, quimite; Guerrero: tusavi; Michoacán: parenscuri, puregue; Morelos: zomplantli; Puebla: laktanga, skotkt, te batai; San Luis Potosí: pémoch (Argueta *et al.*, 1996).

b) Etnobotánica y antropología

Hastings (1990) realizó un estudio de los usos medicinales que se le dan a ciertas leguminosas de las familias Papilionoideae y Fabaceae. Dentro de la familia Fabaceae destacan especies del género *Erythrina*. Menciona que en el estado de Veracruz las hojas de *Erythrina americana* Miller se aplican sobre abscesos y úlceras o se pueden ingerir en caso de picaduras de insectos. También la fruta se utiliza ampliamente en los brazos y piernas o para dolores de cabeza e inflamación de los ojos

c) Botánica y ecología

Árbol pequeño de 3 a 6 metros de altura de ramas espinosas. Las hojas están divididas, son de color verde pálido y tienen grupos de flores rojas como cerillos. Los frutos son unas vainas comprimidas, las semillas de color rojo escarlata con una línea negra (**Figura 19**). Originaria de México. Planta cultivada en huertos familiares o solares, cerca de ríos o terrenos de vega o de cultivos abandonados, asociada a bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo (Argueta *et al.*, 1996).



Figura 19. Semillas, flores y hojas de *Erythrina americana* Miller

d) Origen, distribución y hábitat

Es originaria de México, ya que se considera una planta cultivada en huertos familiares o solares, cerca de ríos o terrenos de viga o cultivos abandonados, este árbol se asocia a un bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo y de bosque encino, ubicado entre los 1180 y 1900 msnm. Por lo cual su floración y fructificación se da o se presenta en los meses de febrero a abril. Se encuentra en todo el trópico y subtropico de México, en el Estado de México y en Puebla, Tabasco, Veracruz Chiapas y Yucatán.

Sánchez *et al.*, (2001) determinaron el contenido y distribución de alcaloides en las flores (cáliz y corola) y localizaron los más tóxicos en *Erythrina americana* Miller. Mediante técnicas de cromatografía de líquidos de alta resolución y espectrometría de masas pudieron observar un alto contenido de alcaloides en el cáliz en comparación con los encontrados en la corola, además de detectar los alcaloides tóxicos α y β -eritroidina en ambos tejidos.

ANEXO 3

➤ Descripción del Género *Erythrina*

Son arbustos o árboles, con ramas o pecíolos usualmente espinosos o armados con fuertes espinas. Las hojas son de tipo pinnadas trifoliadas, presenta folíolos y estípulas grandes, con glándulas solamente en las partes cónicas. Las flores son grandes y vistosas, que están en forma de racimos en las partes axilares o terminales del tubo del cáliz casi truncado, y se observa ligeramente en forma de dos labios. Estambres diadelfos, los tubos son generalmente más grandes que los filamentos libres. Ovario estipitado corto o sésil, de varios óvulos. Vainas grandes, dehiscente. Las semillas grandes, a menudo de color rojo o naranja (Shreve y Wiggins, 1998). Neill (1993) indica que 31 especies corresponden a África, 12 Asia y Oceanía, y aproximadamente 70 se encuentran en el continente Americano; de estas últimas se han identificado 27 para México (**Figura 20**), aunque es probable que existan especies sin identificar. Dado que este género es susceptible de crecer en varios tipos de clima además de que se propaga fácilmente por el método de estaca, se encuentra distribuido en varios estados de la república Mexicana, entre los que destacan Puebla, Morelos, Guerrero, Chiapas, Tabasco, Oaxaca, San Luis Potosí, Veracruz, Estado de México y el Distrito Federal.

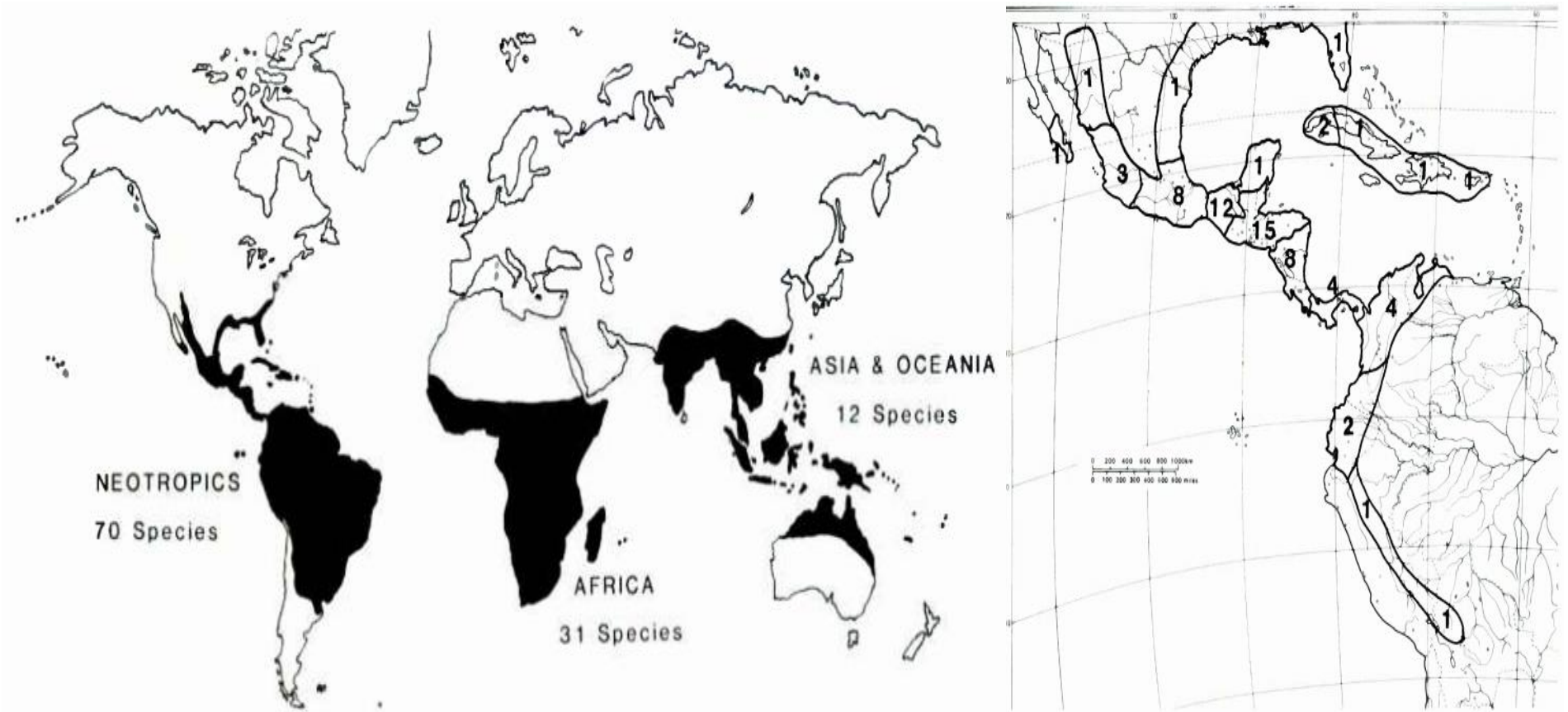


Figura 20. Distribución de *Erythrina* en el mundo y México (Neil, 1988)

Glosario

Opsonización.- proceso de recubrimiento de la materia a fagocitar por sustancias para las que los fagocitos poseen receptores.

Hematemesis.- es la expulsión de vomito con sangre procedente del tubo digestivo alto (desde el ángulo duodeno-yeyunal hasta la boca). Se caracteriza por su color oscuro, el cual por lo general varía de negro a pardo oscuro (similar a posos de café) debido al hecho de estar la sangre parcialmente digerida. A veces puede tener trazas rojizas si el sangrado es muy fuerte.