



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE  
MORELOS**

---

---

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

**EFEECTO DE LAS GALPHIMINAS G-A Y G-E EN EL ENSAYO DE  
EDEMA PLANTAR INDUCIDO CON CARRAGENINA**

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS**

PARA OBTENER EL TITULO DE

**LICENCIADO EN BIOLOGIA**

P R E S E N T A:

**JULISSA RENDÓN MARTÍNEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ

**CODIRECTORA:**

DRA. MAYRA ALEJANDRA SANTILLAN URQUIZA

**El presente trabajo se llevó a cabo en:**

**Centro De  
Investigación  
Biomédica  
del Sur**



Centro de Investigación Biomédica del Sur del  
Instituto Mexicano del Seguro Social.

Departamento de Farmacología y Fitoquímica  
Xochitepec, Morelos.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN  
EN BIODIVERSIDAD Y  
CONSERVACIÓN.**

Centro de Investigación en Biodiversidad y  
Conservación.

Laboratorio de Fitoquímica y Productos  
Naturales.

Cuernavaca, Morelos.

## DEDICATORIA

A mi mamá **Celia Martínez Gálvez** por brindarme su apoyo incondicional en cada paso que he dado en lo que llevo de vida, por apoyar mis metas y celebrar cada uno de mis logros, por inculcarme buenos valores y guiarme en este camino siendo una persona de bien, gracias por todos los consejos, por todo el esfuerzo que has hecho para sacarnos adelante a mi hermana y a mí, gracias por ser madre y padre para nosotras. Te amo mami.

A mi hermana **Ximena Rendon Martínez** por alegrar mis días y llenarlos de felicidad siempre, por impulsarme a lograr todo lo que me he propuesto, por brindarme su apoyo incondicional y ayudarme a salir adelante en cada momento difícil, gracias por no dejarme caer nunca. Te amo hermana.

A mis tías **Rosenda Martínez Gálvez** y **Amanda Martínez Gálvez** que han sido pieza esencial en mi vida, gracias por brindarme siempre su apoyo y su cariño incondicional. Agradezco a la vida por tenerlas, gracias por tanto tías las quiero mucho.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Dra. Mayra Alejandra Santillán Urquiza** quien me brindo su apoyo y estuvo pendiente de todo en este proyecto. Gracias por esta oportunidad de trabajar con usted, por la paciencia que me tuvo, por cada uno de sus enseñanzas y consejos que me brindo a lo largo de este proyecto, es una mujer increíble a la cual admiro y estimo mucho.

Al **Dr. David O. Salinas Sánchez** quien me brindo la oportunidad de poder trabajar en colaboración con personas muy valiosas del Centro de Investigación Biomédica del Sur, gracias por estar al pendiente en el tiempo que duro mi proyecto y por brindarme su apoyo y sus consejos.

A la **Dra. Maribel Herrera Ruiz** por brindarme su apoyo y conocimiento, es una persona maravillosa y la admiro mucho.

Al **Dr. Enrique Jimenes Ferrer** por brindarme su tiempo, por sus consejos y por el apoyo que me brindo en este proyecto.

A la **Dra. Ofelia Sotelo Caro** por formar parte de mi formación académica, por aceptar trabajar en este proyecto, brindarme su tiempo y sus consejos.

Al **Dr. Alejandro Zamilpa Alvares** por dejarme realizar mi proyecto en el Centro de Investigación Biomédica del Sur, por aportarme consejos y brindarme su tiempo.

A mis amigas **Erika V. Reyes Sánchez** y **D. Valeria Vázquez Paulino** por formar parte de mi vida, por la ayuda que me brindaron, por sus conejos y aportes, por los ánimos que siempre me dieron para sacar todo adelante y por las noches de desvelo junto a ustedes, gracias por todo amigas.

A **Raymundo Torres Flores** por guiarme en base al conocimiento que adquirió mediante su proyecto, por las noches de desvelo en las que se quedaba ayudándome, por cada corrección, pero, sobre todo, gracias por la motivación y el apoyo que me brindaste desde el comienzo.

A mi papá **Filiberto Rendon Yepiz** por apoyarme cuando decidí iniciar esta licenciatura, gracias.

A las y los profesores de la Escuela de Estudios Superiores de Jicarero en especial a la maestra Isaura Quintana Padilla, por todo el esfuerzo que pone para enseñarnos y guiarnos, por animarnos a seguir más allá de nuestros límites y ser ella un ejemplo a seguir para muchos, gracias por tanto maestra, la quiero mucho.

A la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos** por formar estudiantes y convertirlos en grandes profesionistas.

A la **Escuela de Estudios Superiores de Jicarero** por permitirnos formarnos dentro de sus instalaciones.

Al **Centro de Investigacion Biomedica del Sur** por permitirme realizar mi proyecto dentro de sus instalaciones y dejarme utilizar sus recursos para llegar a mi objetivo.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS .....	IX
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	2
2.1. Inflamación.....	2
2.1.1. Definición.....	2
2.1.2. Epidemiología.....	2
2.1.3. Clasificación.....	3
2.1.4. Proceso inflamatorio.....	7
2.1.4.1 Citocinas.....	9
2.1.5. Tratamientos.....	10
2.2. Medicina Tradicional.....	13
2.3. Planta de estudio.....	15
2.3.1. Generalidades de la especie <i>Galphimia glauca</i> .....	15
2.3.2. Botánica, distribución y nombres comunes.....	16
2.3.3. Farmacología y Química.....	16
2.3.4. Antecedentes de actividad antiinflamatoria.....	18
2.4. Ensayo de edema plantar inducido por carragenina.....	19
3. JUSTIFICACIÓN.....	21
4. HIPÓTESIS.....	21
5. OBJETIVOS.....	22
5.1. General.....	22

5.2. Particulares.....	22
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
6.1. Obtención del extracto.....	22
6.2. Tratamientos.....	23
6.3 Animales.....	23
6.4. Diseño Experimental.....	23
6.4.1. Etapa 1: Edema plantar.....	24
6.4.2 Etapa 2: Cuantificación de citocinas.....	24
6.5. Análisis estadístico.....	24
<b>7.RESULTADOS.....</b>	<b>25</b>
7.1. Edema plantar inducido con carragenina.....	25
7.1.1. Efecto antiinflamatorio del GgMeOH.....	25
7.1.2. Efecto antiinflamatorio de G-A .....	26
7.1.3. Efecto antiinflamatorio de G-E.....	27
7.1.4. Porcentaje de inhibición de los tratamientos de <i>Galphimia glauca</i> .....	28
7.1.5. Efecto de los tratamientos de <i>Galphimia glauca</i> sobre el peso relativo del bazo y la pata.....	28
7.1.6. Efecto de los tratamientos derivados de <i>Galphimia glauca</i> sobre la concentración de citocinas.....	30
7.1.6.1. Concentración de IL-10 .....	30
7.1.6.2. Concentración de TNF- $\alpha$ .....	31
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>35</b>
<b>10. REFERENCIAS.....</b>	<b>36</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Progresión de inflamación de aguda a crónica.....	<b>6</b>
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de acción de los AINEs.....	<b>13</b>
<b>Figura 3.</b> <i>Galphimia glauca</i> .....	<b>15</b>
<b>Figura 4.</b> Estructura química de las galphiminas.....	<b>18</b>
<b>Figura 5.</b> <i>Chondrus crispus</i> .....	<b>20</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Porcentaje de inhibición de la curva dosis respuesta de los tratamientos derivados de *Galphimia glauca*.....**28**

**Tabla 2.** Índice de órgano, de los tratamientos derivados de *Galphimia glauca* de ratones con edema plantar inducido con carragenina.....**29**

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Grafica 1.</b> Efecto antiinflamatorio del extracto metanolico de <i>Galphimia glauca</i> (GgMeOH) a diferentes dosis sobre el edema plantar inducido con carragenina.....	<b>25</b>
<b>Grafica 2.</b> Efecto antiinflamatorio de la galphimina A de <i>Galphimia glauca</i> (G-A) a diferentes dosis sobre el edema plantar inducido con carragenina.....	<b>26</b>
<b>Grafica 3.</b> Efecto antiinflamatorio de la galphimina E de <i>Galphimia glauca</i> (G-A) a diferentes dosis sobre el edema plantar inducido con carragenina. ....	<b>27</b>
<b>Grafica 4.</b> Efecto de la administración oral de los tratamientos de <i>Galphimia glauca</i> sobre la concentración de IL-10 en bazo de ratones con edema plantar inducido con carragenina.....	<b>30</b>
<b>Grafica 5.</b> Efecto de la administración oral de los tratamientos de <i>Galphimia glauca</i> sobre la concentración de TNF- $\alpha$ en bazo y pata de ratones con edema plantar inducido con carragenina.....	<b>31</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

La inflamación es un mecanismo básico del sistema inmune que está regulado fundamentalmente por la producción de mediadores solubles, como las citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y antiinflamatorias como la interleucina 10 (IL-10), esta última es un regulador de la respuesta inflamatoria; que se libera como reacción reparadora al daño causado a las células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. La inflamación, es un proceso complejo que se presenta en respuesta a diversos estímulos generadores de lesión tisular (traumáticos, tóxicos, isquémicos, autoinmunes, etc.), el descontrol de éste conlleva a la generación de enfermedades entre ellas las catalogadas como crónico-degenerativas, que inducen un alto índice de comorbilidad y mortalidad en el mundo. Si bien, existen tratamientos eficaces, entre ellos los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los corticosteroides, su uso prolongado induce efectos secundarios adversos, que disminuyen la calidad de vida del paciente. En la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas, las plantas medicinales son un objeto de estudio, éstas han sido utilizadas para tratar problemas de salud, de tal forma que son consideradas una fuente importante de nuevos productos antiinflamatorios. *Galphimia glauca* es utilizada en la medicina tradicional mexicana por su efecto sobre los “nervios” y para el tratamiento de padecimientos con un fondo inflamatorio. Ha sido sometida a diferentes estudios químicos y dentro de los farmacológicos incluyen toxicológicos y clínicos principalmente sobre el sistema nervioso central (SNC). Se le han realizado estudios sobre asma (enfermedad de las vías respiratorias que se caracteriza por inflamación crónica de los bronquios) y un ensayo de inflamación del pabellón auricular, inducido con un éster de forbol (TPA), los resultados que se observaron de los triterpenos, Galphimina A y E (G-A y G-E), disminuyeron el edema local causado por el TPA en un 80%. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antiinflamatorio de la administración oral de G-A, G-E y el extracto metanólico de *Galphimia glauca* (GgMeOH), del cual se aislaron dichos compuestos, en el ensayo de edema plantar inducido con carragenina al 4%, analizando el comportamiento dosis-respuesta de estos tratamientos y cuantificando la concentración de mediadores inflamatorios, como las citocinas.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Inflamación.**

#### **2.1.1. Definición**

La inflamación es una respuesta natural de los organismos a diferentes agresiones endógenas o exógenas que consiste en reparar la lesión producida a las células y tejidos vascularizados (Vega, 2008). Se caracteriza por cinco signos clínicos: rubor, calor, dolor, tumor y pérdida de la función, estas manifestaciones cardinales son causadas por la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y derivados de la sangre hacia sitios de los tejidos extravasculares donde existe una infección o lesión, provocada o no por agentes patógenos (Balusu, *et al.*, 2016; González-Costa, *et al.*, 2019). Tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa intervienen en este proceso que tiene numerosos efectos locales y sistémicos (Arts, *et al.*, 2018).

#### **2.1.2. Epidemiología**

Las enfermedades inflamatorias son cada vez más frecuentes y aparecen a edades más tempranas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) menciona que las enfermedades crónicas degenerativas (ECD) presentan procesos inmunes de larga duración y de progresión lenta causando un desgaste físico y/o emocional a quien lo padece, pues ocasiona un desequilibrio en órganos y tejidos (OMS, 2023). Dentro de este grupo de padecimientos, los más reconocidos son: la diabetes mellitus, obesidad, cáncer, enfermedades cardiovasculares y reumáticas, asma, esclerosis múltiple, etc., (Monroy, *et al.*, 2007; Argueta, 1992) siendo estas las principales responsables de la mortalidad en el mundo con el 63% de las muertes.

Un ejemplo de una ECD de carácter autoinmune es la artritis reumatoide (AR) que tiene un alto impacto en la sociedad, según cálculos de la OMS, afecta entre el 1 y 1.5 % de la población mundial con una mayor prevalencia en mujeres (OMS, 2023). Se considera que la AR es el resultado de la interacción de un antígeno desencadenante y una base genética predisponente, que provoca una respuesta autoinmune en el huésped derivándose una respuesta inflamatoria. La AR suele presentarse con dolor y rigidez matutina prolongada

por más de 10 minutos, tumefacción y sensibilidad anormal de las articulaciones enfermas, se presentarán signos inflamatorios como enrojecimiento, calor local e impotencia funcional de varias articulaciones (Lozano, 2001). El tratamiento farmacológico, para trastornos que cursa con un fondo inflamatorio importante se basa en antiinflamatorios no esteroideos ya que se consideran superiores a los analgésicos puros como el paracetamol. Para ello debe haber una evaluación de riesgo para evitar los efectos adversos que estos podrían provocar como problemas gastrointestinales, renales y cardiovasculares. (Barrera, 2010; Carballosa, *et.al.*, 2018).

### **2.1.3. Clasificación.**

La inflamación se puede clasificar según el tiempo en el que se mantenga el proceso inflamatorio, si la respuesta inflamatoria aguda local es exitosa: el agresor es eliminado, el daño no se extiende, no hay manifestaciones sistémicas, la respuesta es inhibida oportunamente, finaliza en poco tiempo y el tejido es reparado satisfactoriamente. Si, por el contrario, el proceso no limitó el daño, la inflamación aguda inicialmente local, se transforma en un proceso sistémico o crónico. La cronicidad y no acertada respuesta del organismo ante estímulos dañinos, puede llevar a que este fenómeno fisiológico sea una constante en el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas (Barreno, 2008). Así, la inflamación cursa con dos fases: aguda y crónica.

- **Fase aguda**

Esta fase se inicia de manera local, es una respuesta rápida y relativamente breve que tiene como características fundamentales la exudación de líquido y de proteínas plasmáticas (edema) y la migración de leucocitos. Requiere de una serie de eventos importante como los mecanismos estructurales, moleculares y los mediadores químicos como histamina, serotonina, citocinas, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor* por sus siglas en inglés), interleucina (IL)-1, quimiocinas, etc., los cuales van a contribuir a que estos eventos se lleven a cabo (León, *et al.*, 2015). Inicia con cambios hemodinámicos en la zona afectada, después los leucocitos salen del torrente sanguíneo y se dirigen al tejido lesionado. Los mastocitos son los agentes que inician el proceso desencadenando una serie de mediadores químicos para la restauración de la zona dañada (Toro, 2016). Cuando el

proceso inflamatorio sigue su curso puede pasar de una inflamación local a una sistémica. La respuesta de fase aguda es inducida principalmente por las citocinas IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  liberadas por las células participantes en dicho proceso. Las citocinas, al ser liberadas en grandes cantidades, actúan sobre distintos órganos lo que origina una reacción sistémica, que se puede resumir en los siguientes rubros (Sutterwalla, *et al.*, 2007).

- **Síntesis de proteínas de fase aguda:** El hígado estimulado principalmente por la IL-6, sintetiza grandes cantidades de factores requeridos para destruir microorganismos y modular el fenómeno inflamatorio. Este grupo incluye, entre otras, a las siguientes proteínas: C reactiva, amiloide sérico, complemento, alfa2-macroglobulina, lectina unidora de manosa, fibrinógeno, alfa-1 antitripsina, haptoglobina.
- **Cambios endocrinos:** Aumenta la secreción de hormonas tiroideas, glucagón, catecolaminas, ACTH, cortisol. Este último es un regulador importante que disminuye la secreción y acción de las citocinas inflamatorias.
- **Aumento del catabolismo de grasas y proteínas:** El TNF- $\alpha$  participa de manera primordial en la movilización de aminoácidos del músculo para que puedan ser utilizados por el hígado; este mecanismo genera pérdida de peso. Si el proceso se torna crónico, la pérdida de peso aunada a la disminución del apetito que induce esta citocina, puede llegar a producir caquexia.
- **Leucocitosis:** El número de leucocitos circulantes aumenta, tanto por la liberación de los que se encuentran adheridos a las paredes de los vasos sanguíneos, como por la producción de células que las citocinas hematopoyéticas (ejemplo, IL-3, GM, CSF) inducen en la medula ósea.
- **Fiebre.** El aumento del catabolismo, así como las citocinas inflamatorias y los productos celulares (PG) inducen, vía hipotálamo, un aumento de la temperatura corporal, lo que inhibe el crecimiento de muchos microorganismos.

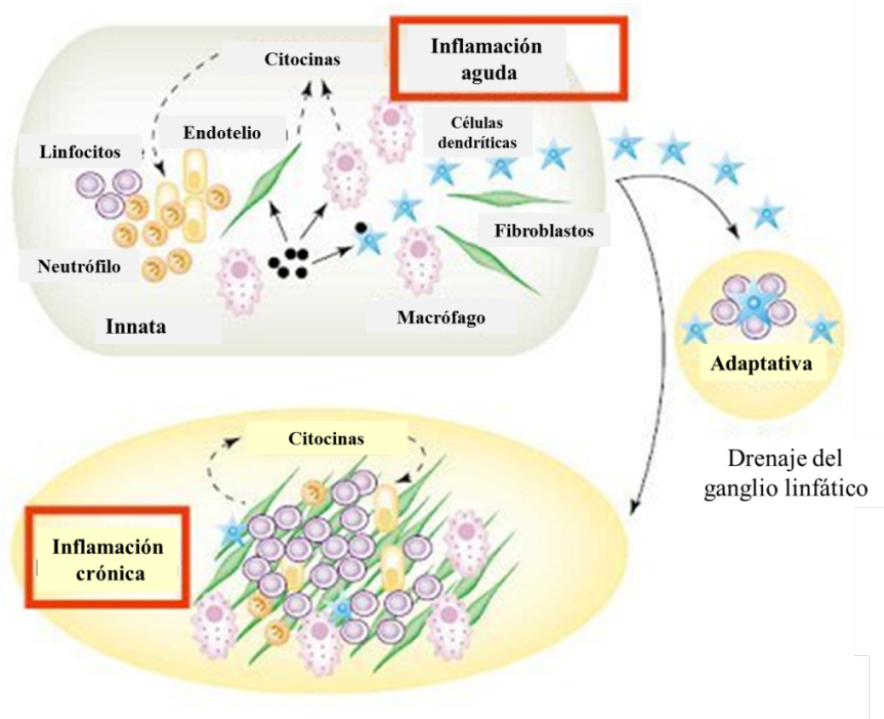
El proceso inflamatorio llega a su término, al desaparecer el estímulo que lo origina, si este proceso se vuelve crónico, a la exacerbación de la respuesta local o sistémica se

sumará la destrucción tisular y el depósito de fibrina en los sitios inflamados. Esto llevará a la limitación o pérdida de la función, así como al daño orgánico y sistémico al mantenerse activo durante un tiempo prolongado (Vega, 2008).

- **Fase crónica**

Se presenta cuando la fase aguda no es capaz de mitigar al agente nocivo ya sea causada por una bacteria, hongo, parásito, u otro estímulo. La inflamación crónica es una respuesta mediada por linfocitos y macrófagos, por la liberación de vasos sanguíneos, la disfunción del endotelio, fibrosis y destrucción tisular (González-Chávez, *et al.*, 2011). Dado que existen algunas infecciones persistentes, la efectividad en la respuesta inicial para eliminar al agente dañino o la autoinmunidad de esta respuesta puede prolongarse por meses o incluso por años dando lugar a la fase crónica (Villalba, 2014).

En la Figura 1 se observa un modelo de persistencia de la inflamación, en la cual el fibroblasto tiene un papel muy importante. Durante la fase aguda se producen señales de peligro, que pueden ser endógenas como las citocinas o exógenas como la entrada bacterias, que pueden activar tanto al fibroblasto como al macrófago, para que éstos produzcan una serie de citocinas proinflamatorias. Estas señales de peligro van a activar también a células dendríticas inmaduras, que migrarán hacia los nodos linfáticos regionales para iniciar una respuesta inmune adaptativa. El paso de una respuesta inmune innata o inespecífica a una de tipo adaptativa es crucial en el proceso de inflamación crónica. En el mismo modelo, los linfocitos, macrófagos y fibroblastos infiltran el tejido y persisten en él por mucho tiempo, prolongando el proceso inflamatorio (Marinovic, 2008).



**Figura 1.** Progresión de inflamación de aguda a crónica. Modificado de: (Marinovic, 2008).

La respuesta inflamatoria puede, en ocasiones, ser nociva. El sistema inmune evolutivamente se desarrolló en momentos donde las principales causas de mortalidad eran extrínsecas como infecciones de escasa duración. En la actualidad las principales causas de morbilidad son enfermedades relacionadas con el envejecimiento y el estrés (González-Costa, *et al.*, 2019). Esta pudiera ser una de las razones por las que el sistema inmune en ocasiones mantiene una respuesta exagerada en el tiempo y causa alteración de la homeostasis, provocando afecciones inflamatorias que pueden ser infecciones persistentes, enfermedades autoinmunes, exposición prolongada a tóxicos, etc. Dicho proceso es muy complejo, las relaciones que se establecen entre sus elementos y etapas son múltiples.



#### 2.1.4. Proceso Inflamatorio

La inflamación está integrada por 5 signos que son: calor, rubor, tumor, dolor y pérdida de la función (Bordés-González, *et al.*, 2010). El calor y rubor se deben a las alteraciones vasculares que determinan una acumulación sanguínea en el sitio del daño. El tumor se produce por el edema y acúmulo de células inmunes, mientras que el dolor es producido por la actuación de determinados mediadores sobre las terminaciones nerviosas nociceptivas (Vega, 2008). De forma esquemática podemos dividir este proceso en cinco etapas (Fainboim y Geffner, 2005).

- **Quimiotaxis:** Es el desplazamiento que, por atracción realiza una célula a lo largo de un gradiente de concentración de una molécula atrayente. A través de este proceso llegan y se acumulan células en el sitio dañado. Por la acción de quimioatrayentes como IL-8, C5a, histamina, leucotrieno (LT) B4, lipopolisacáridos, restos de fibrina o de colágena, las áreas lesionadas reclutan, además de células de la circulación, aquellas que se encuentran en reposo adheridas a las paredes endoteliales. Inicialmente se captan neutrófilos y posteriormente, en un lapso de 24 a 72 horas, participan monocitos, fagocitos y linfocitos. Las células tisulares (cebadas, fibroblastos y queratinocitos) adyacentes a la zona infectada o lesionada, son las primeras en llegar, en ser activadas y en promover la inflamación.

- **Aumento del diámetro vascular:** Este cambio vascular, inducido principalmente por las sustancias inflamatorias: histamina, bradicinina, eicosanoides, triptasas, que son secretadas desde los primeros segundos por los mastocitos locales, los basófilos y las células endoteliales activadas, aumentan el flujo de sangre hacia el área inflamada, lo que genera elevación de la temperatura y enrojecimiento local (calor y rubor).

- **Aumento de la permeabilidad vascular:** La dilatación capilar permite el paso de líquido y proteínas sanguíneas (entre las que se encuentran complemento e inmunoglobulinas), éstos al acumularse producen edema (tumor). La distensión de los tejidos, la acción de la bradicinina y el estímulo que todo lo anterior ejerce sobre las terminaciones nerviosas, originan el dolor, y con él se manifiesta el último punto cardinal

de la inflamación que es la pérdida de la función.

- **Adherencia y rodamiento celular:** Inicialmente los neutrófilos (posteriormente los monocitos) se unen a las células endoteliales a través de las moléculas de adherencia de baja afinidad denominadas selectinas. Los leucocitos se desplazan sobre las células endoteliales de las vénulas postcapilares mediante un mecanismo denominado rodamiento; la velocidad de estas células, que normalmente viajan a 4,000  $\mu\text{m}$  por segundo, se reduce a 40. Las quimiocinas (IL-8) se adhieren a la superficie de los leucocitos en rodamiento e inducen en ellos la expresión de otros grupos de moléculas de adherencia de alta afinidad, las integrinas; a su vez la IL-1 y el TNF actúan sobre las células endoteliales para que aumente la expresión de los ligandos (moléculas unidoras) para las integrinas de los leucocitos, con lo que se establece una unión firme entre ambas células. En forma simultánea, se genera la estimulación de la vía extrínseca de la coagulación, este proceso culmina con la formación de fibrina y un estado procoagulante, lo que impide la diseminación de gérmenes a través de la circulación sanguínea.

- **5. Transmigración o diapédesis celular:** El rodamiento de leucocitos sobre las células endoteliales, culmina con el paso de los leucocitos hacia el foco infeccioso o el tejido lesionado. Los leucocitos pueden pasar a través de las uniones intercelulares. La proteína JAM, las ocludinas y la cadherina VE mantienen las uniones laterales de las células endoteliales, al momento de la transmigración se ha observado una pérdida focal de esta última molécula, lo que favorece la apertura. Los leucocitos también pueden pasar de manera transcelular, para lograrlo, los neutrófilos extienden pseudópodos al interior de la célula endotelial y migran a través de sus poros esta vía es guiada predominantemente por quimiocinas. Una vez que los leucocitos han traspasado la barrera endotelial, pueden llegar al tejido inflamado, guiados por las señales quimioatrayentes que en él se generan. En el sitio de la inflamación, las células fagocíticas endocitan al antígeno, lo procesan y lo convierten en pequeños péptidos, los que unidos a moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) pueden ser presentados a los linfocitos T. De esta manera, se induce la participación de la inmunidad específica o facultativa, con lo que se potencializa notablemente la respuesta inmune ante los agresores o causantes de la inflamación (León, *et*

*al.*, 2016). La respuesta inmune humana está regulada por una red compleja de elementos de control. Entre estos componentes reguladores destacan las citocinas antiinflamatorias y los inhibidores de citocinas específicos, estos inhibidores sirven como elementos inmunomoduladores que limitan los efectos potencialmente dañinos de reacciones inflamatorias. El efecto de cualquier citocina depende del momento de liberación de éstas, el medio local en el que actúa, la presencia y elementos competidores o sinérgicos, la densidad de los receptores de citocinas y la capacidad de respuesta del tejido (Opal, 2000).

Los mediadores de la inflamación pueden ser de origen plasmático o celular. Entre los mediadores de origen celular destacan histamina, serotonina y heparina, que actúan en la fase inicial del proceso inflamatorio, además de la prostaglandina E2, leucotrieno B4 y factor activador plaquetario (PAF). Dentro de los mediadores celulares se encuentra el grupo de las citocinas las cuales juegan un rol fundamental en la propagación y cronicidad de la inflamación, especialmente la interleucina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ , por sus siglas en inglés *tumor necrosis factor*) (Marinovic, 2008; Toledo, 2014).

#### **2.1.4.1. Citocinas**

Las citocinas son un grupo de proteínas y glucoproteínas de bajo peso molecular con vida media corta, producidas principalmente por las células del sistema inmunológico, así como también por células de otros tejidos que actúan como reguladores de la respuesta inmunitaria y son promotoras de las reacciones inflamatorias, ya que regulan el tráfico y afluencia al sitio de la inflamación de varios tipos celulares leucocitarios: eosinófilos, linfocitos T y B, monocitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, además, determinan un incremento a su adhesión en las células endoteliales y/o su activación. Estas células, constituyen una red compleja de interacciones que conecta distintos tipos celulares y en la cual cada una de las citocinas actúa para inducir o suprimir su propia síntesis o la de otras citocinas o sus receptores. La producción de citocinas suele ser breve y transitoria, limitada al que dura el estímulo, es decir, el agente extraño. (Sánchez-Ramón, *et al.*, 2011; Filella, *et al.*, 2002; Aguirre de Avalos, *et al.*, 2002). En este proyecto centraremos la atención a dos citocinas importantes en el proceso de inflamación aguda: IL-10 y TNF- $\alpha$ .

**Interleucina-10 (IL-10):** es la citocina antiinflamatoria más importante dentro de la respuesta inmune, es un potente inhibidor de las citocinas Th1 y desactivador de las síntesis de citocinas pro-inflamatorias, inhibe la producción de citocinas de monocitos/macrófagos y neutrófilos. Las células de tipo Th1 secretan altos niveles de IL-2 y TNF- $\alpha$ , esto activa los macrófagos y promueve la recuperación inmunitaria. Las células de tipo Th2 producen una gran variedad de antiinflamatorios como lo son las citocinas IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. IL-10, es sintetizada principalmente por células CD4+ células Th2, monocitos y células B (Opal, 2000; Sánchez-Ramón, 2011).

**Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ):** es una citocina pro-inflamatoria secretada en el sistema inmunitario por monocitos y macrófagos, por linfocitos T y B, células NK y por leucocitos polimorfonucleares, tiene un amplio rango de efectos biológicos que incluyen inducción de apoptosis, citotoxicidad de células tumorales, activación y diferenciación de monocitos, inducción de la diferenciación de precursores inmaduros a monocitos, aumento de la actividad parasiticida y bactericida de los macrófagos al inducir las vías del superóxido y del óxido nítrico, inducción de la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales favoreciendo la migración local de leucocitos, aumento del receptor de IL-2 en linfocitos T y por consiguiente aumento de la respuesta proliferativa a IL-2, aumento de la respuesta de los linfocitos B estimulados. Por otro lado, el TNF- $\alpha$  tiene efectos fisiopatológicos al ser secretado en grandes cantidades en enfermedades agudas y crónicas, sepsis y cáncer (Ramírez y Sánchez, 2012).

### **2.1.5. Tratamiento**

Existen tratamientos eficaces para contrarrestar los signos y síntomas inflamatorios, y se clasifican en 2 grandes grupos: los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los antiinflamatorios esteroideos.

Los esteroideos son corticoides naturales (hormonas producidas por la corteza adrenal) o semisintéticos de características estructurales y farmacológicas similares a los primeros, aunque en general, son más potentes. Estos actúan sobre la inflamación por diversos caminos, por ejemplo, reducen el número y la activación de eosinófilos, desencadenando la apoptosis de los mismos y disminuyendo algunos de sus factores quimiotácticos que

incluyen las IL-3 e IL-5, el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), eotaxina, entre otras. También reducen la proliferación de linfocitos T (al disminuir la acción de la IL-2), mastocitos y otras células inflamatorias induciendo a la disminución de la producción de citocinas y mediadores pro-inflamatorios (Gómez, 2011). Son utilizados en distintas patologías como enfermedades reumáticas, hematológicas, oncológicas, gastrointestinales, infecciosas y broncopulmonares. El uso prolongado de estos fármacos, al igual que la suspensión brusca de los mismos, conducen a efectos adversos de corto y largo plazo. Dentro de los primeros están diabetes, sangrado digestivo, edema cerebral, glaucoma, hipertensión, entre otros; mientras que en los segundos se presentan enfermedades como osteoporosis, necrosis aséptica, cataratas, convulsiones, infecciones, cambios psicológicos, de conducta y síndrome de Cushing (Botargues, *et al.*, 2011). Por otro lado, los antiinflamatorios no-esteroidales (AINEs) son un grupo de agentes de estructura química diferente que tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) suprimiendo los signos y síntomas de la inflamación.

Poseen una acción inespecífica, es decir, inhiben de forma no selectiva la actividad enzimática de estas dos isoformas COX-1 (constitutiva) y COX-2 (pro-inflamatoria) que conforman la enzima inhibiendo mayormente a la COX-1 (Garrote, *et al.*, 2003), la cual se expresa en la mayoría de los tejidos (mucosa gástrica, plaquetas, riñones, etc.) dando lugar a efectos indeseables tales como problemas gastrointestinales, cardiovasculares y renales (Núñez-Cámara, *et al.*, 2001) (Figura 2). El ácido acetilsalicílico (ASA) o aspirina es el compuesto prototipo de los AINEs, siendo este la base de comparación cuando se sintetizan nuevos fármacos que tengan propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticos. El aumento de la dosis no muestra una mejoría terapéutica y si una mayor incidencia de efectos adversos, por lo que se recomienda no incrementar las dosis máximas especificadas (Prieto, 2007). De forma funcional podemos clasificar a los antiinflamatorios no esteroideos de dos formas: de carácter ácido, por ejemplo, salicilatos, ácidos arilpropiónico, ácidos antranílico, y de carácter no ácido como: derivados anilínicos, derivados pirazolónicos, pirazolidindiónicos y derivados coxib.

En el presente proyecto utilizamos como control positivo al meloxicam, que es un AINEs del grupo de oxicamos con una actividad inhibitoria preferencial, aunque no selectiva por COX2. Ha sido aprobado en más de 80 países para el tratamiento de la osteoartritis, la artritis reumatoide y la espondilitis anquilosante. Su perfil farmacocinético sugiere una buena biodisponibilidad con dosis una vez al día. Las concentraciones en estado estable después de la administración de 7,5 y 15 mg/día se alcanzan después de 3 a 5 días, con una vida media de eliminación de 20 horas. El meloxicam se une ampliamente a las proteínas séricas (99%), su eficacia y tolerabilidad en el tratamiento del dolor e inflamación asociada con trastornos reumáticos, musculo esquelético y como analgésico antiinflamatorio ha sido probada en numerosos estudios, teniendo una toxicidad más baja en los efectos adversos gastro intestinales (Velázquez, 2019).

La eficacia y la tolerabilidad de meloxicam en el tratamiento del dolor y la inflamación asociada con trastornos reumáticos y musculo esqueléticos se ha evaluado en numerosos estudios, en los que se ha demostrado que es al menos tan eficaz como los AINEs no selectivos, con un perfil similar o mejor de tolerabilidad gastrointestinal, y sin los riesgos cerebro vasculares (CV), demostrados por los COXIBS. Por lo tanto, se cree que el meloxicam puede demostrar las ventajas de un inhibidor COX-1 no selectivo sin la toxicidad evidente de estos últimos, y también la ventaja de los COXIBS por su mejor tolerancia GI, sin la desventaja de aumentar el riesgo CV (Vázquez, *et al.*, 2008; Velázquez, 2019).

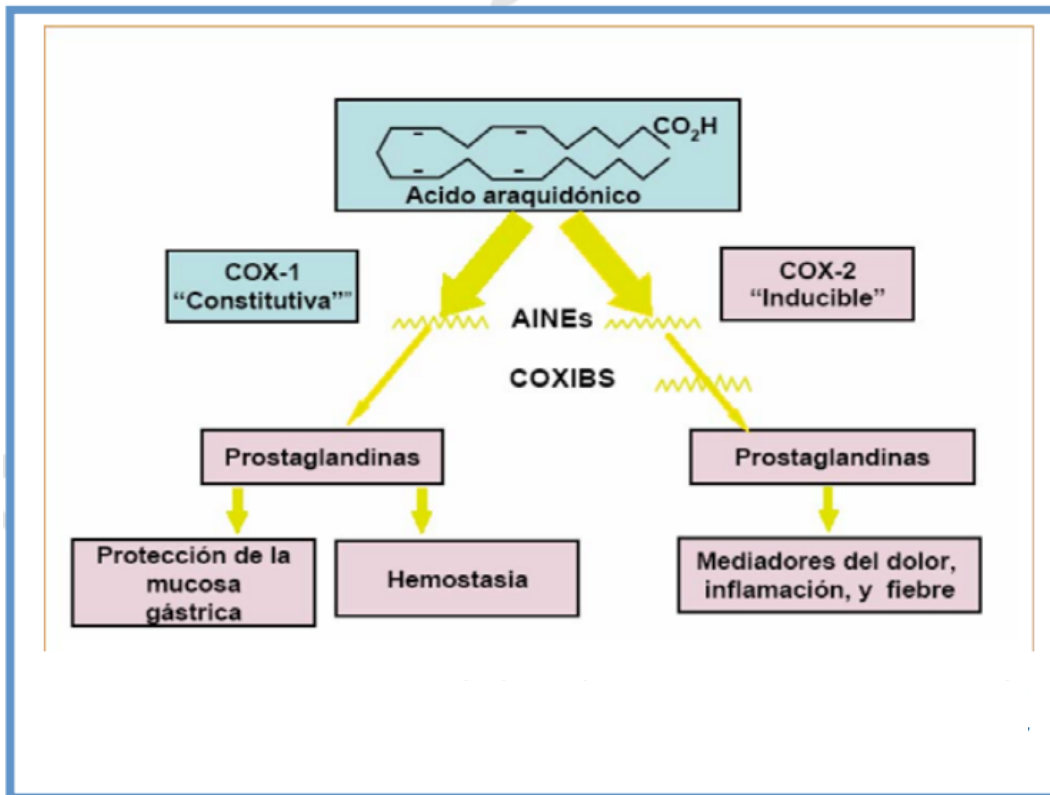


Fig.2. Mecanismo de acción de los AINEs. Tomado de: Muriel *et al.*, 2008.

En términos generales la finalidad de estos fármacos es eliminar o disminuir el proceso inflamatorio, sin embargo, su uso prolongado o no adecuado provoca efectos secundarios adversos que perjudican la calidad de vida del paciente.

## 2.2. Medicina tradicional.

La OMS define a la Medicina tradicional como la suma total de los conocimientos, habilidades y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas. Se utiliza, para tratar diferentes padecimientos en todo el mundo y el porcentaje de la población que recurre a este medio de curación es variado, por ejemplo, en África es más del 80%, en China alrededor del 40% y en Asia y Latinoamérica continúa usándose como resultado de creencias religiosas (Gómez, 2011). En México, existen más de 60 pueblos indígenas que representan un 10% aproximado de la población total, por ello es reconocido

como un país multiétnico y pluricultural, en el cual la medicina tradicional es un fenómeno con características propias (Jiménez, 2017), que tiene como objetivo tratar las enfermedades a través del uso de productos naturales. Existen varias técnicas para la utilización de la medicina natural y tradicional como la homeopatía, la fitoterapia, la acupuntura, entre otras.

Con el amplio número de métodos, técnicas y procedimientos que abarca la medicina tradicional hace de ésta, una de las acciones más importantes para tratar al humano sano y enfermo (Fernández, *et al.*, 2015). La fitoterapia es una técnica milenaria utilizada desde hace más de 500 años siendo este el principal e incluso el único recurso que tenían los médicos. Consiste en la utilización de plantas con propiedades curativas que estimulan las defensas del organismo en lugar de sustituirlas actuando de forma profunda pero suavemente sin agredir al organismo teniendo un resultado eficaz, duradero y libre de generar efectos secundarios presentando así una inmensa ventaja ante los tratamientos químicos (Echegaray, *et al.*, 2011).

Actualmente, las plantas medicinales representan recursos vitales en el tratamiento de ciertas enfermedades ya que son alternativas relevantes para obtener medicamentos innovadores más seguros y eficaces para diversas patologías humanas (González y Degen de Arrúa, 2014), como lo son las enfermedades que cursan con procesos inflamatorios, esto debido a que las sustancias antiinflamatorias de origen vegetal han demostrado ventajas en relación a los antiinflamatorios clásicos (AINEs y corticoesteroides) teniendo una baja incidencia en los efectos adversos provocados por los tratamientos antiinflamatorios clásicos (López-Luengo, 2003). Los efectos activos de las plantas se deben a la presencia de diversos metabolitos secundarios como los aceites esenciales, taninos, ácidos fenólicos, sesquiterpenlactonas, flavonoides, terpenos entre otros, los cuales pueden encontrarse en todo el individuo o solo en alguna de sus estructuras (Huerta, 1997). Su concentración y calidad se ve reflejada por diversos factores como la edad del organismo, el clima, el tipo de suelo y la época del año. Se estima que en México alrededor del 15% de la flora total posee propiedades curativas (Ocegueda, *et al.*, 2005), sin embargo, se calcula que son 50,000 especies utilizadas medicinalmente de las cuales solo se ha investigado una pequeña



cantidad para la obtención de medicamentos (Soejarto, *et al.*, 2005).

Para la extracción de estos compuestos se debe seguir una serie de procedimientos los cuales deben respetar ciertas reglas de recolección, desecación y almacenamiento para que el organismo conserve sus propiedades medicinales (Ocegueda, *et al.*, 2005). Los productos derivados de las plantas ocupan un importante lugar tanto en la medicina tradicional, como en la vida moderna ya que alrededor del 80% de los habitantes del planeta cubren sus necesidades de atención primaria de salud principalmente, con plantas medicinales (Olayiwola, 1993). México tiene una gran herencia cultural en el uso de hierbas aromáticas y medicinales (HAM's) para tratar diferentes padecimientos debido a sus componentes activos (Ezquivel, *et al.*, 2012).

### **2.3. Planta de estudio**

#### **2.3.1. Generalidades de la especie *Galphimia glauca***

- **Clasificación taxonómica**

**Reino:** Plantae

**Filo:** Tracheophyta

**Subfilo:** Angiospermae

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Malpighiales

**Familia:** Malphigeaceae

**Género:** *Galphimia*

**Especie:** *Galphimia glauca*



**Fig. 3.** *Galphimia glauca* (Foto de María Janisa Bulabos Murcia, 2017).

### **2.3.2. Botánica, distribución y nombres comunes**

Es un arbusto nativo de México con flores que llega a medir hasta tres metros de altura, las flores son de color amarillo y se dan a manera de racimos, las hojas son ovadas o alargadas verdes en la parte de arriba y verde azulado por la parte de abajo y sus frutos son unas capsulas pequeñas. Habita en climas semicálidos y templados. Está ampliamente distribuida en México, desde la parte Occidental, el Altiplano, el Bajío y algunos estados del centro. Sus nombres comunes son: flor de estrella, árnica roja, hierba del cuervo, ojo de gallina, botón de oro, calderona amarilla y cola de zorro.

### **2.3.3. Farmacología y Química**

Se aislaron e identificaron compuestos con estructura de seis anillos con el séptimo miembro hetero-ciclo, pero con diferentes grupos funcionales, a los cuales se les dio el nombre de galphiminas, las primeras en ser aisladas e identificadas fueron galphimina-A (G-A) y B (G-B) (Toscano, *et al.*, 1993). Esta especie posee efecto ansiolítico importante, como se evidenció en el modelo de laberinto elevado en forma de cruz (LEC) en el que dosis crecientes del extracto metanólico de *G. glauca* en ratones, causó un aumento significativo en el tiempo que pasan en los brazos de abiertos del aparato, evidenciando disminución de la ansiedad. El extracto fue estandarizado en su contenido G-B: 8.3 mg G-B/g de extracto. Se demostró que G-A y G-B poseen dicha actividad (Herrera-Ruiz, *et al.*, 2006), además de poseer un efecto sedante, pero no anticonvulsivante. A partir de estos estudios surge la idea de que G-B podría tener un mecanismo de acción selectiva, sobre todo en las regiones que regulan las conductas motivacionales que están implicados en los procesos de castigo y la recompensa con un fuerte componente de motor. Con estas bases, se exploró la interacción de G-B con algunas de las estructuras del tallo cerebral. Experimentos de unión al receptor no demostraron ninguna afinidad de G-B con clonazepam, diazepam, o los receptores opioides. Inesperadamente, la actividad neuronal medida con registros extracelulares en rata, mostraron que G-B modifica la actividad eléctrica del área tegmental ventral (ATV) (Tortoriello, *et al.*, 1992). Este terpeno inhibe la actividad dopaminérgica mesencefálica. Registros intracelulares en rebanadas de cerebro de rata en el ATV, mostraron que G-B inhibe los potenciales postsinápticos excitatorios,

similar a el ácido gamma aminobutírico (GABA) y clonazepam, sin embargo, dicha actividad no fue bloqueada por bicuculina, picrotoxina, o flumazenilo, proporcionando así un mecanismo de acción independiente del receptor GABA (Prieto-Gómez, *et al.*, 2003). En otro estudio se demostró que los productos obtenidos de *G. glauca* poseen la capacidad de potenciar la catalepsia inducida con haloperidol, lo que indica una reducción de la transmisión dopaminérgica, asociada a un efecto antipsicótico, sin causar síntomas extrapiramidales, por lo que *G. glauca* podría aliviar los síntomas positivos de la esquizofrenia. (Gardner, *et al.*, 2005).

En contraste con G-B, G-A y G-E bloquean el efecto cataléptico del Haloperidol (Santillán *et al.*, 2018). Además, se realizó un estudio farmacocinético de G-A donde se observó que la concentración de G-A más elevada se alcanzó en el hígado, lo cual puede ser debido a la absorción intestinal, ya que G-A puede ser transportada por la circulación portal en grandes cantidades al hígado. Es posible que la eliminación renal de G-A sin transformar sea el factor que determina que el riñón sea el órgano que presentó un segundo lugar en cuanto a la cantidad de triterpeno que se pudo extraer en un periodo de tiempo comparado (Abarca-Vargas, *et al.*, 2014). Las diferencias estructurales entre las 3 galphiminas más estudiadas que son G-A, G-B y G-E se encuentran en la posición 6 del anillo B de la estructura, donde el grupo funcional C-6 es H para G-B, OH para G-A y Oac para G-E. Estas pequeñas modificaciones generan un cambio drástico en su actividad. Se demostró que estos cambios estructurales son importantes y se manifiestan en diferentes efectos farmacológicos: por ejemplo, la administración de G-A y G-E protegen del edema en el pabellón auricular de ratón hasta un 80%, mientras que G-B no lo hace (González-Cortazar, *et al.*, 2014).

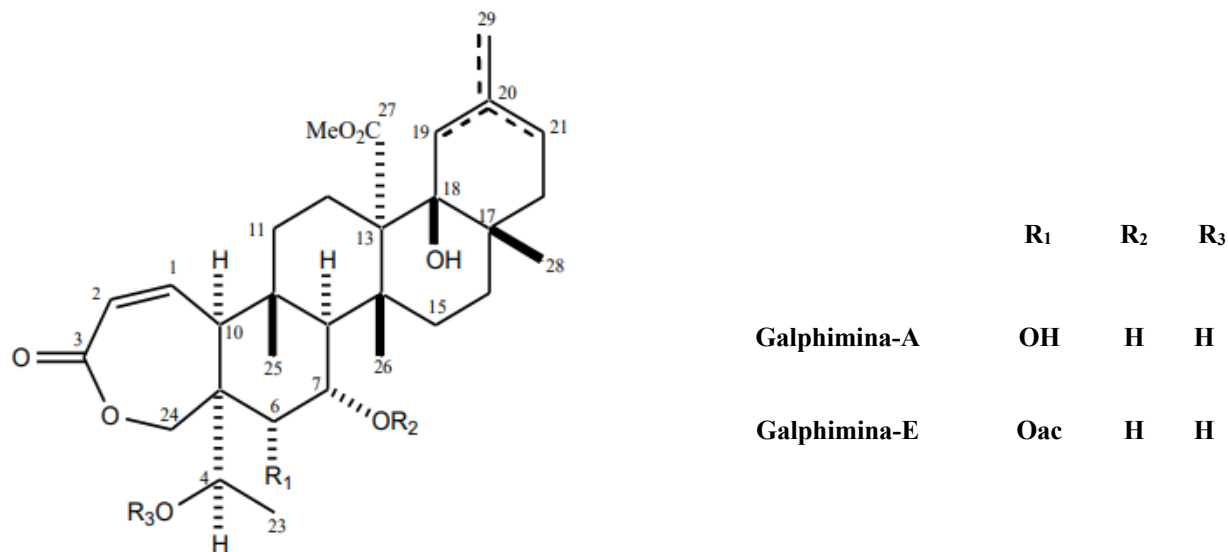


Fig. 4 Estructura química de las galphiminas. Tomado de: Santillan-Urquiza, 2018.

#### 2.3.4. Antecedentes de actividad inflamatoria.

*Galphimia glauca*, en la medicina tradicional mexicana es utilizada como antiinflamatorio, y farmacológicamente se ha mostrado dicha actividad, utilizando modelos de asma se sabe que la planta posee capacidad de inhibir al leucotrieno (LTD-4) y previene la obstrucción bronquial en cobayo provocada por ovoalbumina (Sharma, *et al.*, 2018). En 2014 se realizó un estudio del efecto antiinflamatorio de las galphiminas más activas que son G-A, G-B y G-E en un modelo de edema auricular inducido con TPA (González-Cortazar, *et al.*, 2014).

Se han documentado los efectos sedantes y antiinflamatorios de las galphiminas producidas por la especie *Galphimia glauca*, estudios moleculares mostraron que nueve poblaciones de esta especie pertenecen a cuatro especies diferentes del género *Galphimia* y solo una poseía propiedades sedantes, sin embargo, todas las especies recogidas mostraron actividad antiinflamatoria en un modelo *in vitro* e *in vivo* inducidos por LPS (Gesto, *et al.*, 2021).

En 2016 se desarrolló un estudio que mostro el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de *Galphimia glauca* en un modelo de edema plantar para posteriormente realizar un estudio fitoquímico utilizando HPLC/HPTLC. (Rao, *et al.*, 2016)

Se han llevado a cabo muchas investigaciones para comprender las propiedades fitoquímicas y farmacológicas de *Galphimia glauca*, habiendo estudios que han documentado su actividad antiinflamatoria en extractos y con galphiminas puras (Gesto, *et al.*, 2021).

#### **2.4. Ensayo de edema plantar inducido por carragenina.**

Existe una serie de ensayos que tratan de modelar la inflamación, entre ellos se encuentra el ensayo edema plantar inducido con carragenina. La carragenina, deriva de la palabra irlandesa “carragein” que significa musgo irlandés, se refiere no solo a una especie de alga roja *Chondrus crispus* (Figura 5) que se encuentra a lo largo de áreas rocosas de la costa atlántica de las islas británicas, Europa y América del Norte, sino que también a su extracto de mucopolisacárido, descubierto por el farmacéutico británico Stanford en 1862. Estructuralmente, los carragenos son un grupo de polisacáridos formados por monómeros repetidos relacionados con la galactosa. La inflamación inducida por carragenina, es aguda, no inmunitaria, bien investigada y altamente reproducible. Los signos cardinales de inflamación (edema, hiperalgesia y eritema) se desarrollan inmediatamente después de la inyección subcutánea, como resultado de la acción de agentes pro-inflamatorios: bradicinina, histamina, taquiquininas, complemento, especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS). Dichos agentes se pueden generar *in situ* en el sitio de la agresión o infiltrando células. Los neutrófilos migran fácilmente a los sitios de inflamación y pueden generar oxígeno reactivo pro-inflamatorio y otras especies.

La respuesta inflamatoria generalmente se cuantifica por el aumento del tamaño del cojinete plantar (edema), que es máximo alrededor de 5 h después de la inyección de carragenina y es modulada por inhibidores de moléculas específicas dentro de la cascada inflamatoria. Los fármacos antiinflamatorios no esteroidal (AINEs) son un ejemplo clínicamente útil para este modelo (Navneet, *et.al.*, 2013)



**Fig. 5.** *Chondrus crispus*. Autor: Chris J. Chandler.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Si bien la inflamación es un proceso fisiológico que sirve de mecanismo de defensa ante agresiones del medio, la cronicidad de los eventos puede formar parte de procesos fisiopatológicos, asociados a las enfermedades crónicas degenerativas como el cáncer. Los trastornos musculoesqueléticos como artritis, osteoporosis, entre otros, suelen cursar con dolor (a menudo persistente) y limitación de la movilidad, la destreza y el nivel general de funcionamiento, lo que reduce la capacidad de las personas para trabajar.

Aproximadamente 1710 millones de personas tienen trastornos musculo esqueléticos en todo el mundo, estos trastornos comprenden más de 150 tipos, que afectan el sistema locomotor. Abarcan desde trastornos repentinos y de corta duración, como fracturas, esguinces y distensiones, a enfermedades crónicas que causan limitaciones de las capacidades funcionales e incapacidad permanente como lo hace la artritis reumatoide.

El tratamiento crónico con AINEs o fármacos esteroidales, generan efectos adversos indeseables que llevan al detrimento de la calidad de vida de los pacientes que tienen una enfermedad crónica-degenerativa, aunado a su ya de por sí mal estado de salud. Por lo que, la búsqueda de mejores terapias continua y uno de los objetivos de estudio de esta línea, se refiere a las plantas medicinales y sus metabolitos. *Galphimia glauca*, una planta usada en la medicina tradicional para aliviar algunos trastornos inflamatorios como heridas, granos, inflamación de la matriz, y como antirreumática. Existen estudios de su actividad antiinflamatoria, que sirven de antecedente para la presente investigación, que pretende abundar sobre el efecto del extracto y los triterpenos G-A y G-E aislados de la especie y determinar si su capacidad antiinflamatoria por vía oral es dosis-dependiente y si está asociada a la modulación de la respuesta inmune por disminuir o incrementar mediadores como las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-10, en un ensayo de edema plantar inducido con carragenina.

Entonces el extracto y los triterpenos G-A y G-B ¿disminuyen la inflamación plantar inducida con carragenina, por disminuir el edema y modular la concentración de TNF- $\alpha$  e IL-10 en la pata y bazo de ratones?

#### **4. HIPÓTESIS**

Debido a que el extracto metanólico, G-A y G-E actúan como antiinflamatorios locales, entonces la administración oral de estos disminuirá el edema plantar y la concentración de TNF- $\alpha$ , además de incrementar IL-10.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **5.1. General**

Evaluar el efecto del extracto metanólico (GgMeOH), de G-A y G-E obtenidos de *Galphimia glauca*, sobre el edema plantar inducido con carragenina y la concentración de citocinas pro y anti-inflamatorias, en ratón.

##### **5.2. Particulares**

- Evaluar el efecto de la administración oral de GgMeOH, G-A y G-E, sobre la inflamación plantar inducida con carragenina.
- Calcular los parámetros de área bajo la curva, DE<sub>50</sub> y Emáx del efecto antiinflamatorio de la galphimina más activa, mediante una curva dosis-respuesta, en el ensayo de edema plantar inducido con carragenina.
- Medir la concentración de citocinas TNF- $\alpha$  e IL-10, por el método de ELISA, en el cojinete plantar de ratones con edema inducido con carragenina.

#### **6. MATERIAL Y METODOS**

##### **6.1. Obtención del extracto**

Los compuestos G-A y G-E de *Galphimia glauca*, con una pureza del 98% serán proporcionados por el laboratorio del CIBIS-IMSS, el procedimiento que se utilizó para la extracción de los compuestos fue el siguiente: Las partes aéreas de *Galphimia glauca* Cav. (Malpighiaceae) se obtuvieron de un cultivo controlado en el estado de Morelos. La planta fue analizada taxonómicamente e identificada por M. en. C. Abigail Aguilar-Contreras, del Herbario IMSS, un ejemplar de la planta se encuentra en el mismo Herbario con el número



IMSSM-11061. El material vegetal fue secado a temperatura ambiente, bajo condiciones de sombra en un lugar ventilado durante 2 semanas. El material seco (10 kg) se trituró en un molino eléctrico hasta obtener partículas <4 mm. Posteriormente se realizó, la extracción consecutiva por maceración con *n*-hexano y posteriormente con metanol, realizándose por triplicado para cada disolvente. El disolvente se eliminó en un evaporador rotatorio y se obtuvo un extracto metanólico seco de *Galphimia glauca* (GgMeOH) con un rendimiento del 18.5%. El extracto se sometió a un procedimiento de separación química para obtener las galphiminas. La cromatografía en columna abierta se llevó a cabo con gel de sílice de fase normal (Merck) y, como fase móvil, se utilizó un sistema de gradiente que comenzaba con *n*-hexano:acetato de etilo (EtOAc) (7:3) y con incrementos sucesivos de EtOAc. La separación se monitoreó mediante Cromatografía de Capa Fina (CCF), para la identificación de fracciones con la mayor cantidad de galphiminas. El producto obtenido se sometió a cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) hasta obtener una fracción de terpenos. De esta fracción se aislaron cada una de las galphiminas (G-A y G-E). La identificación de las galphiminas se realizó mediante HPLC (González-Cortazar, *et al.*, 2014; Santillan-Urquiza., 2018).

## **6.2. Tratamientos**

Los tratamientos experimentales fueron GgMeOH (31.25, 62.5, 125, 250 y 500 mg/kg, vía oral -vo-) G-A y G-E (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/kg, -vo-), vehículo (VEH, Tween 20 al 1 %, -vo-), carragenina (40 µl de una solución al 4%), Meloxicam (5 mg/kg, -vo-).

## **6.3. Animales**

Se utilizaron ratones hembra Balb-C (25g, n=6), en condiciones controladas con un ciclo de luz-oscuridad 12/12hrs, temperatura de 23 ± 2°C, acceso libre a comida y agua (manejo siguiendo la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999).

## **6.4. Diseño experimental**

El presente proyecto se realizó en 2 etapas:

#### **6.4.1. Etapa 1: Edema plantar**

En esta etapa se inició con el ensayo de inflamación aguda de edema plantar inducido con carragenina: Los tratamientos fueron administrados 1 hora antes de la carragenina, se emplearán 6 ratones hembra por grupo. Al inicio se midió el tamaño de la pata de los ratones con un micrómetro, posteriormente se aplicó intraplantarmente 40 µl de carragenina al 4%, en la pata derecha, en el grupo basal se administró solución salina. Se midió el edema con el micrómetro a los 30 min, 1, 2, 4 y 24 h, para la construcción de curva temporal de la inflamación.

#### **6.4.2. Etapa 2: Cuantificación de citocinas**

En esta etapa se realizó la cuantificación de las citocinas y para ello los animales fueron sacrificados por dislocación cervical para la extracción de los órganos, se disecaron las patas y bazo, estos fueron pesados, para calcular el índice del órgano en porcentaje respecto al peso del animal:  $\text{Índice del órgano (\%)} = \text{Peso del órgano (g)} / \text{peso animal (g)} * 100$ . Los órganos de los animales se homogenizaron en frío con una solución amortiguadora de fosfatos pH= 7.4 con fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF, 5 Mm, inhibidor de proteasas de serina). Después de homogenizar las muestras serán centrifugadas, el sobrenadante se almacenará a -70°C, para ser usados en la cuantificación de citocinas (TNF-α e IL-10) por el método de ELISA. el cual se llevó a cabo siguiendo las indicaciones del fabricante BD Biosciences.

#### **6.5. Análisis estadístico.**

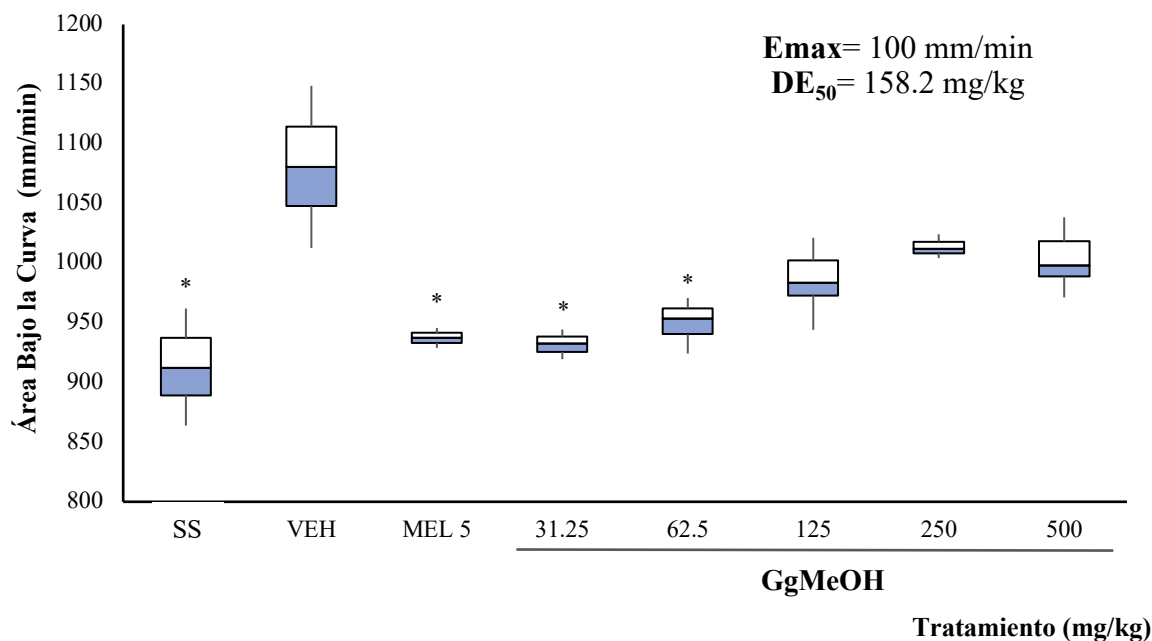
A los datos obtenidos se les realizó la prueba de ANOVA y post-prueba de Dunnet, con valor de significancia de  $p \leq 0.05$ , con el programa estadístico SPSS-11.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Edema plantar inducido con carragenina.

#### 7.1.1. Efecto antiinflamatorio del GgMeOH

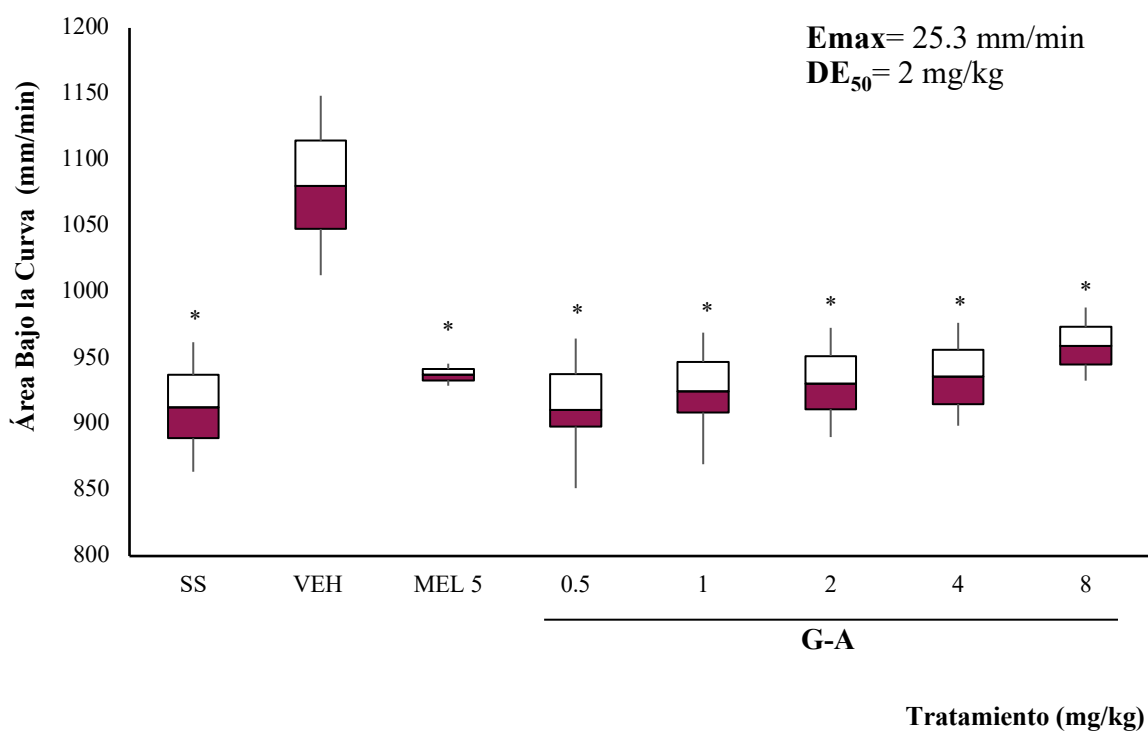
En la gráfica 1 se muestra el área bajo la curva del comportamiento del edema (mm) provocado por la carragenina, durante el tiempo que se monitoreo la inflamación, se observa que GgMeOH a diferentes dosis (31.25, 62.5, 125, 250 y 500) disminuye significativamente la inflamación plantar en comparación con el grupo de daño que solo recibió VEH (Tween 20 al 1%) (\* $p < 0.05$ ). Un efecto similar al observado en el grupo con MEL a 5 mg/kg. El grupo de SS no recibió el estímulo con carragenina. Se calculó el efecto máximo de la curva dosis respuesta del GgMeOH durante el tiempo y se obtuvo un  $E_{max} = 100$  mm/min y una  $DE_{50} = 158.2$  mg/kg.



**Gráfica 1.** Efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de *G. glauca* (GgMeOH) a diferentes dosis sobre el edema plantar inducido con carragenina. Solución salina isotónica (SS, Vehículo (VEH, Tween 20 1%), Meloxicam (MEL, 5 mg/kg) ANOVA, post-prueba Dunnet comparado con VEH (n=6, promedio  $\pm$  DE, \* $p \leq 0.05$ ).

### 7.1.2. Efecto antiinflamatorio de G-A

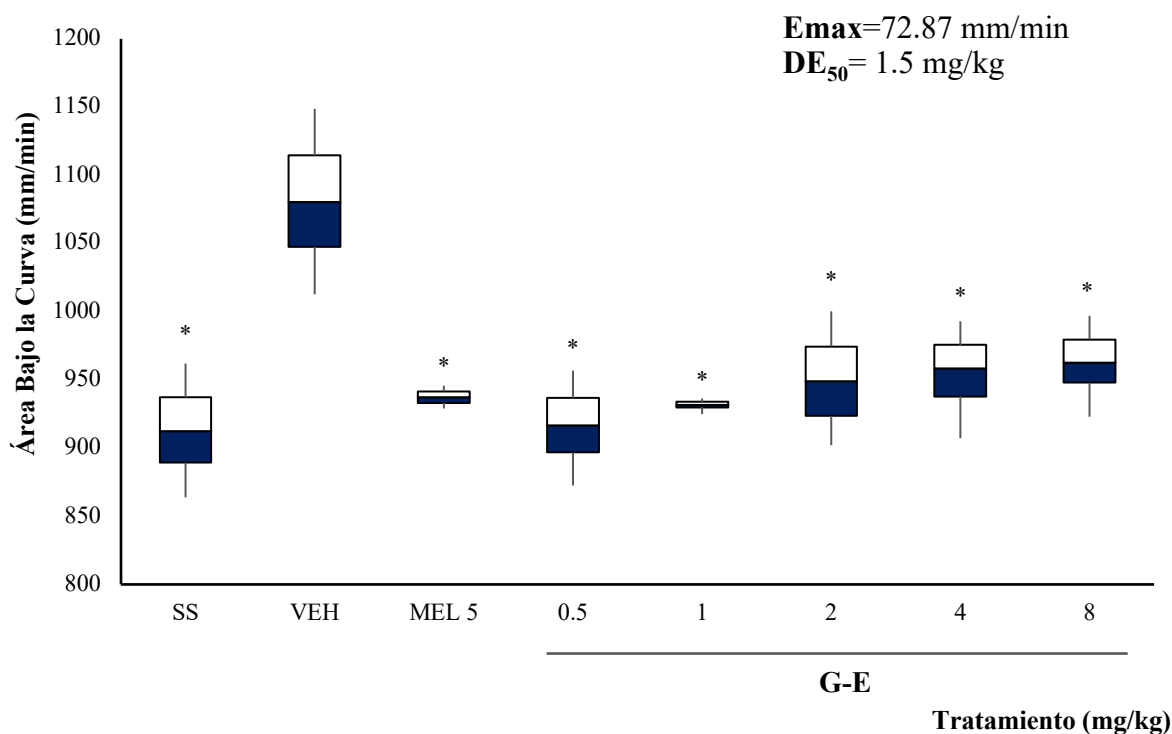
En la gráfica 2, se observa que G-A a diferentes dosis (0.5, 1, 2, 4, 8 mg/kg), genera una disminución significativa del edema del cojinete plantar, inducido con carragenina, en comparación al VEH (\* $p < 0.05$ ). Los ratones que recibieron MEL y diferentes dosis de G-A, provocan un decremento significativo de la inflamación en comparación con el VEH (\* $p < 0.05$ ). Se calculó el efecto máximo y se obtuvo un valor de  $E_{max} = 25.3$  mm/min y una  $DE_{50} = 2$  mg/kg.



**Grafica 2.** Efecto antiinflamatorio de la galphimina A de *G. glauca* (G-A) a diferentes dosis sobre el edema plantar inducido con carragenina. Solución salina isotónica (SS), Vehículo (VEH, Tween 20 1%), Meloxicam (MEL, 5 mg/kg) ANOVA, post-prueba Dunnet comparado con VEH (n=6, promedio  $\pm$  DE, \* $p \leq 0.05$ ).

### 7.1.3. Efecto antiinflamatorio de G-E

En la gráfica 3 se muestra el área bajo la curva del comportamiento del edema (mm) provocado por la carragenina, durante el tiempo que se monitoreo la inflamación, se observó que G-E a diferentes dosis (0.5, 1, 2, 4, 8 mg/kg) muestra diferencias significativas con respecto al grupo de daño que solo recibió VEH ( $*p < 0.05$ ), al disminuir la inflamación; un efecto similar al observado en el grupo con MEL. También se calculó  $E_{max} = 72.87$  mm/min y una  $DE_{50} = 1.5$  mg/kg.



**Grafica 3.** Efecto antiinflamatorio de la galphimina E de *G. glauca* (G-A) a diferentes dosis sobre el edema plantar inducido con carragenina. Solución salina isotónica (SS), Vehículo (VEH, Tween 20 1%), Meloxicam (MEL, 5 mg/kg) ANOVA, post-prueba Dunnet comparado con VEH (n=6, promedio  $\pm$  DE,  $*p \leq 0.05$ ).

#### 7.1.4. Porcentaje de Inhibición de los tratamientos de *Galphimia glauca*

En la Tabla 1. Se muestra el cálculo del porcentaje de inhibición del edema a las 4 horas, proveniente de los resultados del curso temporal de la inflamación.

**Tabla 1.** Porcentaje de Inhibición, de los tratamientos derivados de *Galphimia glauca* de ratones con edema plantar inducido con carragenina.

Tratamiento (mg/kg)	% inhibición 4 horas
MEL 5	29.34 ± 0.012
GgMeOH	
31.25	36.83 ± 0.036
62.5	38.92 ± 0.048
125	16.27 ± 0.051
250	35.45 ± 0.034
500	24.21 ± 0.046
G-A	
0.5	49.94 ± 0.081
1	38.05 ± 0.071
2	64.14 ± 0.064
4	40.48 ± 0.052
8	16.72 ± 0.077
G-E	
0.5	57.51 ± 0.109
1	46.49 ± 0.008
2	36.83 ± 0.057
4	27.72 ± 0.078
8	27.33 ± 0.053

Tratamientos derivados de *Galphimia glauca* (GgMeOH, G-A y G-E); VEH (Vehículo); MEL (Meloxicam).

#### 7.1.5. Efecto de los tratamientos de *G. glauca* sobre el peso relativo del bazo y la pata

Los resultados obtenidos en el modelo de edema plantar inducido con carragenina nos permitieron seleccionar la dosis más activa de los diferentes tratamientos de *Galphimia glauca* de los cuales los animales fueron sacrificados y se diseccionó la pata inflamada y el bazo, en la **tabla 2** se observa el índice (%) de peso del órgano en proporción al peso total del animal.

**Tabla 2.** Índice de órgano, de los tratamientos derivados de *Galphimia glauca* de ratones con edema plantar inducido con carragenina.

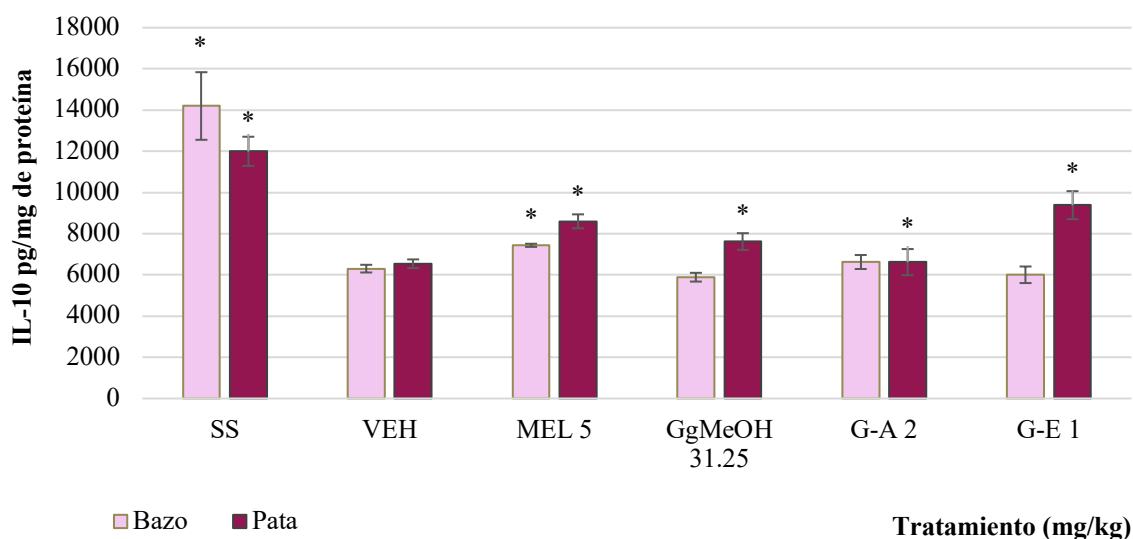
Tratamiento (mg/kg)	Pata	Bazo
	% índice del órgano	
SS	0.606 ± 0.026*	0.529 ± 22.57*
VEH	0.839 ± 0.060	0.635 ± 146.77
MEL 5	0.666 ± 0.0935*	0.501 ± 10.84*
GgMeOH 31.25	0.607 ± 0.0860*	0.491 ± 15.49*
G-A 2	0.798 ± 0.0672	0.574 ± 18.77
G-E 1	0.644 ± 0.0697*	0.497 ± 19.56*

Tratamientos derivados de *Galphimia glauca* (GgMeOH, G-A y G-E); VEH (Vehículo); MEL (meloxicam); SS (Solución salina). Los datos muestran ± D.E. de 6 animales \* $p < 0,05$  indica diferencias estadísticamente significativas utilizando un ANOVA seguido de la prueba de Dunnet en comparación con el grupo VEH.

## 7.1.6 Efecto de los tratamientos derivados de *Galphimia glauca* sobre la concentración de citocinas

### 7.1.6.1. Concentración de IL-10

En la gráfica 6, se observan los niveles de IL-10 en bazo y pata de ratones con edema plantar inducido con carragenina. La IL-10 en bazo presenta una mayor concentración en el grupo control sin daño (SS) cuando se compara con el grupo VEH ( $p<0.05$ ), el grupo MEL a 5 mg/kg, y los diferentes tratamientos de *Galphimia glauca* (GgMeOH 31.25 mg/kg, G-A 2 mg/kg), son significativamente diferentes respecto al grupo VEH ( $p<0.05$ ), al aumentar la concentración de IL-10 en el bazo de los ratones con inflamación inducida con carragenina, G-E a 1 mg/kg muestra diferencias significativas con respecto al VEH, mostrando una disminución de la IL-10 con respecto a este grupo ( $p<0.05$ ). Por otro lado, en los niveles de IL-10 en pata, se observa que los tratamientos de *Galphimia glauca* no muestran diferencias significativas comparados con el grupo VEH y los únicos tratamientos que muestra diferencias significativas fueron los grupos control (SS y MEL 5 mg/kg) ( $p<0.05$ ).



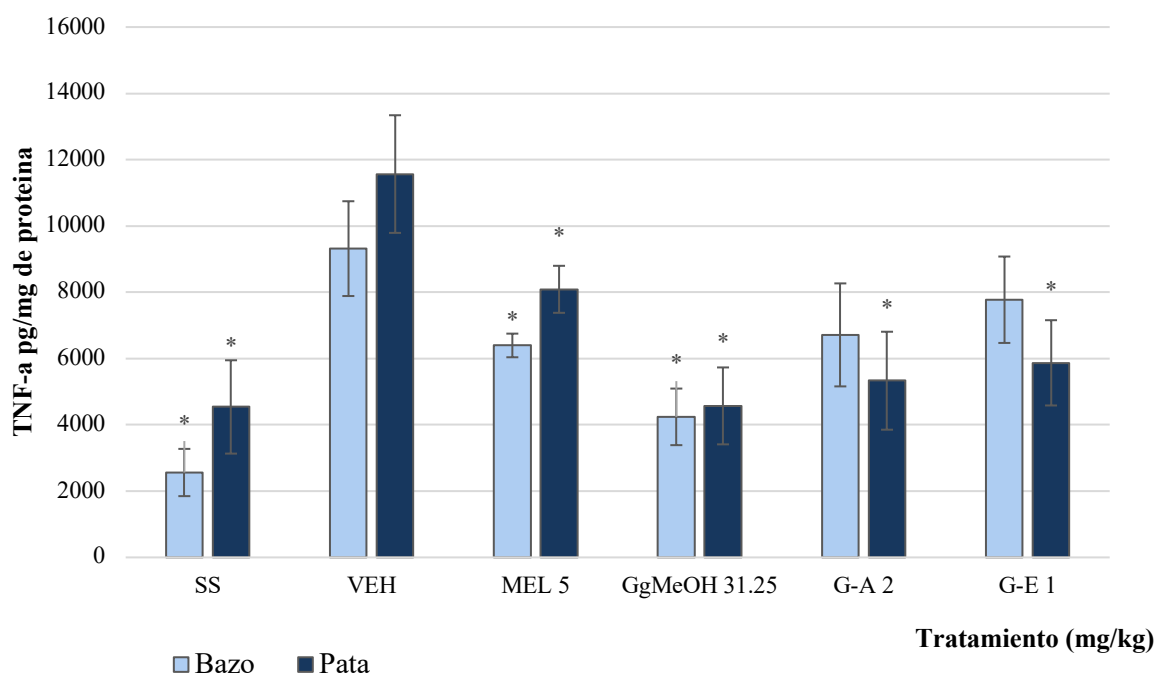
**Gráfica 4.** Efecto de la administración oral de los tratamientos de *Galphimia glauca* sobre la concentración de IL-10 en bazo y pata de ratones con edema plantar inducido con carragenina. Tratamientos: Extracto metanólico (GgMeOH, 31.25 mg/kg), Galphimina-A (G-A, 2 mg/kg),



Galphimina-E (G-E, 1 mg/kg), Meloxicam (MEL, 5 mg/kg), Solución Salina (SS), Vehículo (VEH, Tween 20 al 1%). ANOVA post prueba Dunnet,  $n=6 \pm DE$ ,  $*p < 0.05$  en comparación con el VEH.

### 7.1.6.2. Concentración de TNF- $\alpha$

En la gráfica 7 se observan los niveles de TNF- $\alpha$  en bazo y pata de ratones con edema plantar inducido con carragenina. La concentración de TNF- $\alpha$  en bazo muestra que los tratamientos de MEL 5 mg/kg, el grupo sin daño (SS) y GgMeOH a 31.25 mg/kg fueron significativamente diferentes, donde se observa una disminución de la concentración comparados con el grupo VEH ( $*p < 0.05$ ). La concentración de TNF- $\alpha$  en la pata de ratones con edema, es mayor en el grupo VEH, los tratamientos SS, MEL a 5 mg/kg y los diferentes tratamientos de *Galphimia glauca* (GgMeOH 31.25 mg/kg, G-A 2 mg/kg y G-E 1 mg/kg) disminuyeron la concentración de TNF- $\alpha$  mostrando diferencias significativas comparado con el VEH ( $*p < 0.05$ ).



**Gráfica 5.** Efecto de la administración oral de los tratamientos de *Galphimia glauca* sobre la concentración de TNF- $\alpha$  en bazo y pata de ratones con edema plantar inducido con carragenina. Tratamientos: Extracto metanólico (GgMeOH, 31.25 mg/kg), Galphimina-A (G-A, 2 mg/kg), Galphimina-E (G-E, 1 mg/kg), Meloxicam (MEL, 5 mg/kg), Solución salina (SS), Vehículo (VEH, Tween 20 al 1%). ANOVA post prueba Dunnet,  $n=6 \pm DE$ ,  $*p < 0.05$  en comparación con el VEH.

## 8. DISCUSIÓN

*Galphimia glauca* es una importante especie vegetal endémica, que posee diversas propiedades medicinales y ha sido utilizada en la medicina tradicional mexicana por sus propiedades como sedante, ansiolíticas, anticonvulsivas, antiasmáticas, y antialérgicas. Las propiedades terapéuticas de esta planta se deben principalmente a la presencia de diversos compuestos bioactivos como flavonoides, triterpenoides y fenoles. Los estudios científicos han demostrado muchas de sus actividades biológicas, como actividades antiinflamatorias, antidiarreicas, gastroenteritis, antipalúdicas y citotóxicas (Sharma *et al.*, 2018).

La respuesta inflamatoria generalmente se cuantifica por el aumento del tamaño de la pata (edema), que es máximo alrededor de 5 h después de la inyección de carragenina y es modulada por inhibidores de moléculas específicas dentro de la cascada inflamatoria como son las citocinas. El fármaco antiinflamatorio no esterooidal (AINE) es un ejemplo clínicamente útil para este modelo (Morris, 2003). Los AINEs son medicamentos de primera línea para tratar la inflamación ya que regulan la modulación de prostaglandinas y son actualmente las terapias para tratar el dolor agudo e inflamación crónica que se presenta en diversas enfermedades crónico-degenerativas (Hannon, *et.al.*; 2003).

En este estudio se utilizó como fármaco antiinflamatorio meloxicam (MEL) a una dosis de 5 mg/kg, se ha evidenciado la eficacia y la tolerabilidad de meloxicam en el tratamiento del dolor y la inflamación asociada con trastornos reumáticos y musculo esqueléticos (Ruperto, *et al.*, 2005; Storino, *et al.*, 2015), en lo que se ha demostrado que es al menos tan eficaz como los AINES no selectivos, con un perfil similar o mejor de tolerabilidad gastrointestinal, y sin los riesgos cerebro vasculares que provocan otros fármacos como por ejemplo los COXIBS (Vázquez, *et al.*, 2008). La problemática que se genera sobre el uso de antiinflamatorios es la presencia de efectos adversos causando una devaluación en la calidad de vida.

La inflamación es un mecanismo básico del sistema inmune que está regulado fundamentalmente por la producción de mediadores solubles, como las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias (Vega, 2008).

Las citocinas son pequeñas moléculas secretadas por células nucleadas en respuesta a estímulos específicos, las cuales están involucradas en diferentes facetas de la inmunidad, influyendo en la actividad, la diferenciación, la proliferación y la supervivencia de las células inmunológicas, así como también regulan la producción y la actividad de otras citocinas que pueden aumentar (proinflamatorias) o atenuarlas (antiinflamatorias), siendo necesarias para conducir la respuesta inflamatoria hacia las regiones de infección y lesión favoreciendo la cicatrización apropiada de la herida. Estas se generan por medio de diversos tipos de células en la región de la lesión y por células del sistema inmunológico. (Barros de Olivera, 2011). Tienen una profunda influencia en procesos infecciosos, alérgicos y autoinmunes. Los niveles de expresión de algunas de estas moléculas, como el TNF- $\alpha$  y la IL-10 pueden influir en la progresión de enfermedades crónicas degenerativas como diabetes, artritis reumatoide, enfermedades cardiovasculares, por mencionar algunas.

El tratamiento antiinflamatorio MEL a 5 mg/kg, pero también los tratamientos derivados de *Galphimia glauca* provoca un incremento de IL-10, cuando se compara con el grupo de daño. Esta molécula es un polipéptido no glucosilado que inhibe las citocinas proinflamatorias, principalmente el TNF, IL-1 y IL-6 y estimula la producción endógena de citocinas antiinflamatorias (Barros de Olivera, 2011). Así, el extracto y los triterpenos G-A y G-B, se están comportando como moduladores de la respuesta inmune, al tener un efecto sobre la concentración de esta citocina anti-inflamatoria que como consecuencia puede ser el factor que inhiba la elevación de TNF- $\alpha$  (proinflamatoria).

Existe evidencia de plantas con efecto antiinflamatorio, en este proyecto se evidenció el potencial antiinflamatorio de *Galphimia glauca* y dos de sus compuestos activos G-A y G-E pertenecientes a la división terpenoide de los polifenoles, entre los que se encuentran principalmente los “nor-seco-triterpenos”, que en este caso se denominan galphiminas. Los terpenoides son productos naturales a base de isopreno con funciones fundamentales en el metabolismo de todos los organismos, forman parte del metabolismo secundario de las plantas este grupo de compuesto refieren un efecto antiinflamatorio importante. En la especie *Andrographis paniculata* se aisló el compuesto andrographolide que es un diterpenoide que posee un efecto importante sobre la inflamación, la apoptosis y el

deterioro de la angiogénesis implicados en la patogenia de la lesión de los endotelios vasculares inducida por niveles elevados de glucosa (Duan *et al.*, 2019). Uno de los ejemplos más claros son los cannabinoides que pertenecen al grupo de los terpenofenoles con actividad antiinflamatoria descrita ampliamente, recientemente se descubrió que el cannabidiol (CBD) demuestra un potencial terapéutico para el alivio del comportamiento relacionado con el dolor artrítico y que ejerce un efecto antiinflamatorio sin efectos psicoactivos evidentes en el centro cerebral alto (Bruni *et al.*, 2018). Por lo que podemos atribuir el efecto antiinflamatorio a las galphiminas presentes en la especie *Galphimia glauca*.

Los resultados demuestran la actividad antiinflamatoria del (GgMeOH) y las galphiminas G-A y G-E a diferentes dosis que son capaces de disminuir el edema plantar inducido con carragenina.

## 9. CONCLUSIONES

1. El extracto metanólico de *Galphimia glauca* (GgMeOH) y las galphiminas G-Ay G-E a diferentes dosis son capaces de disminuir el edema plantar inducido con carragenina evidenciando su efecto antiinflamatorio.
2. El tratamiento con mayor eficiencia fue el GgMeOH presentando un  $E_{max} = 100$  mm/min y una potencia  $DE_{50} = 158.2$  mg/kg y el compuesto más eficiente fue G-E con un  $E_{max} = 72.87$  mm/min y una potencia  $DE_{50} = 1.5$  mg/kg.
3. El GgMeOH a la dosis de 31.25, G-A a 2 mg/kg y G-E a 1 mg/kg fueron capaces de modular a la baja la concentración en bazo de la citocina IL-10 y sólo el GgMeOH a la dosis de 31.25 mg/kg disminuyó TNF- $\alpha$  en este mismo órgano, en ratones con edema plantar inducido con carragenina.
4. El GgMeOH a la dosis de 31.25, G-A a 2 mg/kg y G-E a 1 mg/kg fueron capaces de modular a la baja la elevación en la concentración en pata de TNF- $\alpha$  en ratones con edema plantar inducido con carragenina.

## 10. REFERENCIAS

- [1] **Abarca-Vargas R**, Zamilpa A., Alarcón-Aguilar F., Herrera-Ruiz M., Tortoriello J., y Jiménez-Ferrer E. (2014) Pharmacokinetic Study in Mice of Galphimine-A, an Anxiolytic Compound from *Galphimia glauca*. **Molecules**. Vol. 19. Pp. 3120-3134.
- [2] **Acón RD**, Zapata AN, Méndez RA. (2012) Artritis reumatoide. **Revista Médica de Costa Rica y Centroamerica**. Vol. 69. Pp. 299-307.
- [3] **Aguirre de Avalos, MV.**, Quintana R. y Brandan N. (2002) CITOQUINAS. Universidad Nacional del Nordeste. **Facultad de Medicina**. Catedra de Bioquímica. Pp. 1-19.
- [4] **Argueta VA**. (1992) Atlas de las Plantas Medicinales de México. 1ª edición. Mexico. D.F.: Instituto Nacional Indigenista. Pp. 169.
- [5] **Arts RW**, Joosten L, Netea M. (2018) The potential role of trained immunity in autoimmune and auto inflammatory disorders. **Frontiers in Immunology**. Vol. 9. Pp. 1-16.
- [6] **Balusu S.**, Van Wonterghem E., De Rycke R., Raemdonck K., Stremersch S., Gevaert K., Brkic M., Demeestere D., Vanhooren V., Hendrix A., Libert C., Vandenbroucke RE. (2016) Identification of a novel mechanism of blood brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus- derived extracellular vesicles. **EMBO Molecular Medicine**. Vol. 8. Pp. 1162-1183.
- [7] **Barreno-García P**. (2008) Inflamación. **Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Física y Naturales**. Vol. 102. Pp. 91-119.
- [8] **Barrera CA.**, Beltran-Castillo JA., Blanco FF., Flores AS., Jara-Quezada LJ., Neri GM., Perez RA., Prieto-Parra RE., Sanchez GA., Vera-Lastra OL. (2010) Diagnóstico y Tratamiento de Artritis Reumatoide del Adulto. **CENETEC**.
- [9] **Barros de Oliveira CM.**, Sakata RK., TSA., Issy AM., Gerola LR., Salomão R. (2011) Citocinas y Dolor. **Revista Brasileria de Anestesiologia**. Vol. 61. Pp. 137-142.
- [10] **Bordes-González R.**, Martinez-Beltrán M., García-Olivares E. y Guisado-Barrilao R. (2010) El proceso inflamatorio. Universidad de Granada. **Departamento de Enfermería y Fisioterapia**. Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud. Vol. 11.

Pp. 54-21.

- [11] **Botargues M.**, Enz P., Musso C. (2011) Tratamiento con corticoides. **Nota Farmacológica**. Evidencia: Actualización de la Practica Ambulatoria. Vol. 14. Pp. 33 – 36.
- [12] **Bruni N.**, Pepa-Della C., Bosso-Oliaro S., Pessione E., Gastaldi D., Dosio F. (2018) Cannabinoid Delivery Systems for Pain and Inflammation Treatment. **Molecules**. Vol. 23. Pp. 2478.
- [13] **Carballosa FU.**, Aguilar ZG., Pacheco MC., Figueroa CL. (2018) Eficacia de la Analgesia Preoperatoria con Antiinflamatorios no Esteroidales (Aines) en Cirugia de Terceros Molares. Revision de la Literatura. **International Journal Odontostomatology**. Vol. 12. Pp. 131-136.
- [14] **Cisneros-Caballero AF.**, Felgueres-Planells MJ., Vela-Jarquín E. y Gomez-Martín D. (2017) Estrategias terapéuticas para la artritis reumatoide: hacia las terapias biotecnológicas. **Investigación en discapacidad**. Vol. 6. Pp. 69-87.
- [15] **Devarajan A.**, Shih D., Srinivasa T. (2015) Inflammation, infection, cancer and all the role of paraoxonases. **Advances in Experimental Medicine Biology**. Vol. 824. Pp. 33-41.
- [16] **Duan MX.**, Zhou H., Wu QQ., Liu C., Xiao Y., Deng W., Tang QZ. (2019) Andrographolide Protects against HG-Induced Inflammation, Apoptosis, Migration, and Impairment of Angiogenesis via PI3K/AKT-eNOS Signaling in HUVECs. Mediators of Inflammation. **eCollections**.
- [17] **Echegaray-Rodriguez JR.**, Echegaray GP., Mosquera FA., Gerrikaetxebarria PJ. (2011) Fitoterapia y sus aplicaciones. **Revista Española de Podologia**. Vol. 6. Pp. 258-267.
- [18] **Esquivel GE.**, Noriega CR., Bello GM., Saavedra MA., Salgado GR. (2012) Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. **Biológicas**. Vol. 14. Pp. 45-52.
- [19] **Fainboim L.**, Geffner J. (2005) Introducción a la inmunología humana. 5ª Edición. **Argentina Editorial Panamericana**.
- [20] **Fernández-Santana KA.**, Ferrales-Rey Y., Ricardo-Rodríguez E., Colomé-Silvia

- ME., Rodriguez-Hung AM. (2015) Aplicación de la medicina tradicional y natural en las urgencias de prótesis estomatológicas. **Revista Archivo Médico Camagüey**. Vol. 19. Pp. 298-304.
- [21] Filella X. y Ballesta AM. (2002) Estructura y función de las citocinas. **Medicina Integral**. Vol. 39. Pp. 63-71.
- [22] Gardner DM., Baldessarini RJ., Waraich P. (2005) Moder antipsychotic drugs: a critical overview. **Cmaj**. Vol. 172. Pp. 1703-1711.
- [23] Garrote A., Bonet R. (2003) El papel de los AINE en el tratamiento analgésico. **Ámbito farmacéutico**. Vol. 22. Pp. 56-62.
- [24] Gesto BR., Meneses G., Espinosa CA., Granados G., Cervantes TJ., Cardoso TA., Sciutto E. (2021) Natural populations of *Galphimia* spp. attenuates peripheral and central inflammation. **Research Square**. Pp. 1-24.
- [25] Gill N, V Bijjem KR, Sharma PL. (2013) Anti-inflammatory and anti-hyperalgesic effect of all-trans retinoic acid in carrageenan-induced paw edema in Wistar rats: Involvement of peroxisome proliferator-activated receptor- $\beta/\delta$  receptors. **Indian Journal of Pharmacology**. Vol. 45. Pp. 278–282.
- [26] Gómez Estrada HA., González Ruiz KN., Domingo Medina J. (2011) Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**. Vol. 10. Pp. 182-217.
- [27] González Y., Degen de Arrúa R. (2014) Plantas utilizadas en la medicina popular paraguaya como antiinflamatorias. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**. Vol. 13. Pp. 213-231.
- [28] Gonzalez-Chavez A., Elizondo-Argueta S., Gutiérrez-Reyes G., León-Pedroza I. (2011) Implicaciones fisiopatológicas entre inflamación crónica y el desarrollo de diabetes y obesidad. **Cirugía y Cirujanos**. Vol. 79. Pp. 209-216.
- [29] González-Cortazar M., Herrera-Ruiz M., Zamilpa A., Jiménez-Ferrer E., Marquina S., Álvarez L., Tortoriello J. (2014) Anti-Inflammatory Activity and Chemical Profile of *Galphimia glauca*. **Thieme**. Planta Medica. Journal of Medical Plant and Natural Product Research. Vol. 80. Pp. 90- 96.
- [30] González-Costa M., Padrón-González AA. (2019) Inflammation from an



- immunologic perspective: a challenge to medicine in the 21st century. **Revista Habanera de Ciencias Médicas**. Vol. 18. Pp. 30-44.
- [31] **Hannon R.**, Croxtall, J. D., Getting, S. J., Roviezzo F., Yona S., Paul-Clark, M. J., Flower, R. J. (2003) Aberrant inflammation and resistance to glucocorticoids in annexin 1<sup>-/-</sup> mouse. **The FASEB Journal**. Vol.17. Pp. 253-255.
- [32] **Herrera-Ruiz M.**, González-Cortazar M., Jiménez-Ferrer E., Zamilpa A., Álvarez L., Ramírez G. y Tortoriello J. (2006) Anxiolytic Effect of Natural Galphimines from *Galphimia glauca* and their Chemical Derivatives. *Journal of Natural Products*. Vol. 69. Pp. 59-61.
- [33] **Huerta C.** (1997) La herbolaria: mito o realidad. CONABIO. **Biodiversitas**. Vol. 12. Pp. 1-7.
- [34] **Jiménez-Silva AA.** (2017) Medicina tradicional. **Boletín CONAMED-OPS**. No.13. Pp. 1-6.
- [35] **Leon-Regal ML.**, Alvarado BA., Armas-Garcia JO., Miranda AL., Varens-Cedeño JA., Cuesta del Sol JA. (2016) Inflammatory Acute Response. Biochemical and Cellular Considerations. **Universidad de Ciencias Médicas, Cienfuegos, Cuba**. Vol. 5. Pp. 47-61.
- [36] **López-Luengo TM.** (2003) Plantas medicinales antiinflamatorias utilizadas en el tratamiento del reumatismo. **Offarm. Elsevier**. Vol. 22. Pp. 118-122.
- [37] **Lozano JA.** (2001) Artritis reumatoide (I). Etiopatogenia, sintomatología, diagnóstico y pronostico. **Offarm**. Vol. 20. Pp 94-101.
- [38] **Marinovic MA.** (2008) Inflamación, daño y reparación en enfermedades reumáticas. Inflammation, damage and repair in rheumatic diseases. **Medwave**. Vol. 8. Pp.
- [39] **Monroy-Ortiz C.**, Castillo-España P. (2007) Plantas medicinales utilizadas en el Estado de Morelos. 2nd edicion. México: **Editorial Universidad Autonoma del Estado de Morelos**. Pp. 182-183.
- [40] **Nuñez-Camara C.**, Ventura LP., Martínez-Escudero JA. (2001) AINEs “clasicos” e inhibidores selectivos de la COX-2. **Boletín Farmacoterapeutico de Castilla la Mancha**. Vol. 2. Pp. 1-8.
- [41] **Ocegueda S.**, Moreno E. y Koleff P. (2005) Plantas utilizadas en la medicina

- tradicional y su identificación científica. CONABIO. **Biodiversitas**. Vol. 62. Pp. 12-15.
- [42] **Olayiwola Akerele (1993)**. Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. **Foro Mundial de la Salud**. Vol. 14.
- [43] **OMS (2023)** Transtornos musculoesqueléticos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/musculoskeletal-conditions>. Consultado el 31 de enero.
- [44] **Opal SM., DePalo VA. (2000)** Anti-Inflammatory Cytokines. **Chest**. Vol. 117. Pp. 1162-1172
- [45] **Prieto-Gómez B., Tortoriello J., Vázquez-Álvarez A. y Reyes-Vázquez C. (2003)** Galphimine-B modulates synaptic transmission on dopaminergic ventral tegmental area neurons. *Planta Médica*. Vol. 69. Pp. 38-43.
- [46] **Prieto-Setién JM. (2007)** Antiinflamatorios No Esteroideos (AINE's) ¿Dónde estamos y hacia donde nos dirigimos? (Primera parte). **Científica Dental**. Vol. 4. Pp. 203-212.
- [47] **Ramírez-Alvarado M. y Sánchez Roitz C. (2012)** El factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , la resistencia a la insulina, el metabolismo de lipoproteínas y la obesidad en humanos. **Nutrición Hospitalaria**. Vol. 27. Pp. 1751-1757.
- [48] **Rao-Garige BS., Srisailam K., Rao-Vattikuti UM. (2016)** Assessment of antinociceptive and anti-inflammatory activities of Galphimia glauca stem methanol extract on noxious provocation induced pain and inflammation in in-vivo models. **ResearchGate**. Vol. 8. Pp. 1283-1289.
- [49] **Ruperto N., Nikishina I., Pachanov DE., Shachbazian Y., Prieur AM., Mouy R., Joss R., Zulian F., Schwarz R., Artamonova V., Emminger W., Bandeira M., Buoncompagni A., Foeldvari I., Falcini F., Baildam Eileen., Kone-Paut I., Alessio M., Gerloni V., Lenhardt A., Martini A., Hanft G., Sigmund R., Simianer S. (2005)** A Randomized, Double-Blind Clinical Trial of Two Doses of Meloxicam Compared With Naproxen in Children With Juvenile Idiopathic Arthritis. **American College of Rheumatology**. Vol. 52. Pp. 563-572.
- [50] **Sánchez-Ramón S., López-Longo FJ., Carreno L. (2011)** Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias.

**Reumatología clínica.** Vol. 63. Pp. 20-24.

- [51] **Santillán-Urquiza MA. (2018)** Evaluacion del efecto producido por el extracto de *Galphimia glauca* y sus compuestos en modelos de psicosis inducida en raton. Tesis para obtener el grado de doctora en ciencias biologicas y de la salud. **Universidad Autónoma Metropolitana.** Pp. 77-78.
- [52] **Santillán-Urquiza MA., Herrera-Ruiz M., Jiménez-Ferrer E., Román-Ramos R., Tortoriello J., Zamilpa A. (2018)** Pharmacological interaction of Galphimia glauca extract and natural galphimines with Ketamine and Haloperidol on different behavioral tests. **Biomed Pharmacother.** Vol. 103. Pp. 879-888.
- [53] **Sharma A., Angulo-Bejarano PI., Madariaga-Navarrete A., Oza G., Iqbal HM., Cardoso-Taketa A., Villarreal ML. (2018)** Multidisciplinary Investigations on *Galphimia glauca*: A Mexican Medicinal Plant with Pharmacological Potential. **Molecules.** Vol. 23. Pp. 2985.
- [54] **Soejarto DD., Fonga HHS., Tana GT., Zhang HJ., Ma CY., Franzblau SG. (2005)** Ethnobotany/ethnopharmacology and mass bioprospecting: Issues on intellectual property and benefits haring. **Journal Ethnopharmacology.** Vol. 100. Pp. 5-22.
- [55] **Sutterwalla F., Ogura Y., Flavell R. (2007)** The inflammasome in pathogen recognition and inflammation. **Journal of Leukocyte Biology.** Vol. 82. Pp. 259-264.
- [56] **Toledo-Yupanqui CL. (2014)** Inflamacion: Mediadores Quimicos. **Revista de actualizacion clinica.** Vol. 43. Pp. 2266-2270.
- [57] **Toro R., Chevre R., Rodríguez C., Ordóñez A., Martínez GJ., Andrés V., Méndez FS. (2016)** Nestin+ cells direct inflammatory cell migration in atherosclerosis. **Nature communications.** Vol. 7. Pp. 12706.
- [58] **Tortoriello J., Lozoya X., (1992)** Effect of Galphimia glauca methanolic extract on neuropharmacological tests. **Planta Medica.** Vol. 58. Pp. 234–236.
- [59] **Toscano RA., Ortega A., Maldonado E., Gaviño R., Lozoya X. y Tortoriello J. (1993)** Structure of galphimine B. **Acta Crystallographica.** Vol. 49. Pp. 774-776.
- [60] **Vázquez-Cortés S., Vázquez-Fuertes L., Rodríguez-Álvarez M., Reig Rincón de Arellano I., y Martínez-Cócera C. (2008)** Tolerancia a celecoxib y meloxicam en

- pacientes con intolerancia a analgésicos no esteroideos. **In Anales de medicina interna**. Vol. 25. Pp. 163-167).
- [61] **Vega-Robledo BG. (2008)** Inmunología para el médico general: Inflamacion. **Revista Facultad de Medicina UNAM**. Vol. 51. Pp. 220-222.
- [62] **Velázquez de Campos O. (2019)** Meloxicam, un AINE con características especiales. **Revista Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapeutica**. Vol. 38. Pp. 657-658.
- [63] **Villalba- Herrera EW (2014)** Inflamación I. **Revista de Actualización Clínica**. Vol. 43. Pp. 2261-2265.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



El Jicarero, Jojutla, Morelos, 25 de abril del 2023

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**PRESENTE.**

Por este conducto comunico a usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Licenciado en Biología: **C. Julissa Rendón Martínez**, con el título del trabajo: **EFFECTO DE LAS GALPHIMINAS G-A Y G-E EN EL ENSAYO DE EDEMA PLANTAR INDUCIDO CON CARRAGENINA**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI

VOTO EN CONTRA: \_\_\_\_\_

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: \_\_\_\_\_

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_

FIRMA

BIÓL. JOSÉ ERNESTO GASPAR DOMÍNGUEZ

DRA. OFELIA SOTELO CARO

DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ

BIÓL. GERARDO VALOIS JUÁREZ

DR. JESÚS ENRIQUE JIMÉNEZ FERRER

DR. ALEJANDRO ZAMILPA ÁLVAREZ

DRA. MARIBEL LUCILA HERRERA RUIZ

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARIBEL LUCILA HERRERA RUIZ | Fecha:2023-04-25 08:54:31 | Firmante

bSVlxtlG1Sj5nSRVdqlyu3HtQBIMR5cXO1DaKqWIZUH6pEJTsGg1h2tJCvbdDpC7Hw5jwXQriRMrozMEE+c5H3gA2/WA5Yygl/1cdWTiKzhSu6RgBwkogH3A65R4ERaGbEN7LTeYKN16g5/OPXPW3ItJ0EZZVnTCP0+CHMyXQwPNOOZ7OwuECGFuVPgfcFIXL3FrkmFKarFLIVS++v1cR8Fnsy40qtW2+I2E5byIQJBDM2750Mf5mAQGR5nnfQWnMK1TRf mkkKQAsMIAjom1azw8K2UHF5nnFZ8mP8jowJZydt3RaJGC1jciC7pWUuwOacWOHFFc70uXAd4Bsw==

ALEJANDRO ZAMILPA ÁLVAREZ | Fecha:2023-04-25 10:07:42 | Firmante

jmmQpZeiK3hNuLlWQWbt69kFkXAsRhn3iO9/RJ/xZO57gPsFHTl5+SX0nV8PI5huQTK3+wzSSoFVa43bjqZUUEXbq4Hh/ErmBV769QLjZyf7RodQ/ZH+PBTY9fGIYInmktw0kpvVkruis06DszV8SfzyVgNlyKeV74UHvYhooowday5bJqzeNSTHFJA5K2GISsjK8uzRP6G6LncvWl6GfSQEJawsZrz0wuSL+VMenQmXuGxAAz3BpKPhA8oCols/wLqE2A1AY9uBo6ktdfGtfq521VYXjaz4vtglYfJWPa6PP1oEgyQG7ARCKo4x5lRjwvWJea3glod77p7qFxsQ==

JESUS ENRIQUE JIMENEZ FERRER | Fecha:2023-04-25 11:49:04 | Firmante

rOD9F0vFKVFAhT33NkvD5bDFe11CywORc86w1Pn8oe+/Fex93H/VDrlRuBDN+ZAmvxl+EqfpsHA3JT/ER5Mb16AOY3H0Y8Q9uIQjvLaqZYH2P3xH1V8zRhoRJ7PtTfmp9Qd2+aDqZHkyloryK4IMGV33ZiIDZnuYH5xd6Nam9SbKFCYOTSg7uswn9Z7MMUAnMhBPuzQpp1TSRsAy3Pex+val6U3L+mFW+h7m8x7nlHwMHCPve6BMgvQ5W06p/p1ZFob/w05GNvpp8Qo1ntmh4m+0rcu+CDK29Z/v6+1LryigGTFev5kVQveErUKpOwe38M91UZ0ge/0T0GpmfoA==

DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2023-04-25 12:54:57 | Firmante

uwdy+Seiuc9qim0y23JgH9k5rOIP24GgAnkXhxoO/Yff0ilsEVyBfUk8d6img4ghHDZ0/zRE18ohyf8ui4qzfHkX1q13MqK+QxfWpxK6oFohMdJKwCvoWmlYclBxJufZR54yJm23CdsylZPVPDJKincmDf1AA4JYy/jGrW6DCfRpR1ItArZ0F4MNO1ZvmvnUTKgBQrorh7pTAYwo4XKrTKqETzQ6eLUTN6+7s3bOFDO6iWkZULPPbFk8OUN8xcwJYJ90PKgKUYQZJjss9p2BsM0bCFRXXrifkZPmlv0eykl/5fbZ1JipUkasbCNkxkAmgQ02r8QyFdDUeneQ==

OFELIA SOTELO CARO | Fecha:2023-04-26 17:22:27 | Firmante

rvh3kviCJE8GzNFsifBtH11LelkfedtH1E/gw/2KplnTG4wEvhJitw1t+9drgNoZxbvni/05l1kpsaSPm9iUM7ucxl80tOFybj9yPraY1aCEY//H+z0w1iluqMiWn0FbWASDTpfCGPTk7stLmGnbb3j9+bfzHgv6svyvfQjeOaShaO1MXnHQ7e8m9eu2WVIZWZDo5j6RgjQsm9getgE1HCsp9DWzjHwQ45Y15byQTIK+trmaH1Zfb7gv0RMmLx8xVevkdDShWWnhSn42rpBviWEIS8ZjHjMnQeh/0OauEsZgA9j05oro8ssac+sv5kqhLhgKws636f2embrd7Rig==

JOSE ERNESTO GASPARD DOMINGUEZ | Fecha:2023-04-28 08:38:14 | Firmante

UxCfPl+nUIESLopOUYYQjSHBs8B3b776BMMlCrtGfGrc8xMOM7LqrtPlotVMfehrzGEga0nM8lGvC4itXtH5IT2m87hwM/zFrivAzBIHEiqGvDL2Vsz+UFDm0PRNO5OzVV0PhQLfIKjOrtpHofqWbyi+yRhXNfKzuAHkTIE6geQYy00lIfUk/OYb38eUufC6Q5pmXNLKOrxzcqUuc6g/2ioeryagxP+mJRCySg2NZDe11BQXCzWiHjhSh524kOc4FeKZR8ziScyn+XUFE3lgaIqf31zpEk5C3ZLmba++iRh9KdovBJT9XrOzeE21pAIDc6p3HQGUUOw==

GERARDO VALOIS JUAREZ | Fecha:2023-04-28 13:20:33 | Firmante

oz+2YVIDmXSAz7WWF1OC9LFvZZla539FJW7nYZ+12Yh/oghSVi7B/CpBjZav78Csp1RABiKr4zsaltySUL/FRIrY1AkU32AF1rmzt6P+OIR+/N9icnRWSjfbatpzvml9ecq3oRymPB L5p9T645SfiyP8j3Rspbd1O0ybiHtbMt0wNKdiw6vw8V4Hf/kRaqvVQFW+Owk+9iMfOidOCRI2zRIS3/fDAQYnbfYsIkmoQxRaZQ5ZmDIW8O5EdgFtDgSGVwa/axlfjofOKShortXf9A+oshFaa5cgoB96t0LumOqhbT0A1bDrNJYnn6DOQC9U2ytdmR7g/iAtfSkvDA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



VU2bDZs4J

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/vzaS2w2QCgjmMHUePdvWlqHOObqsa4w

