



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

**PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO
EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**EXPLORACIÓN, APROVECHAMIENTO Y VALIDACIÓN
EXPERIMENTAL DE PLANTAS CON EFECTO ANTI-
INFLAMATORIO DE LA SIERRA MADRE ORIENTAL DE
SAN LUIS POTOSÍ.**

**Tesis que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Ambientales**

Presenta:

Ing. Amb. Paulina Guzmán Guzmán

**Director de tesis:
Dra. Erika García Chávez**

**Comité tutelar:
Dra. Bertha Irene Juárez Flores
Dr. Javier Fortanelli Martínez**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

EXPLORACIÓN, APROVECHAMIENTO Y VALIDACIÓN EXPERIMENTAL DE PLANTAS CON EFECTO ANTI- INFLAMATORIO DE LA SIERRA MADRE ORIENTAL DE SAN LUIS POTOSÍ.

Tesis que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Ambientales

Presenta:

Ing. Amb. Paulina Guzmán Guzmán

Sinodales:

Presidente:

Dra. Erika García Chávez

Secretario:

Dra. Bertha Irene Juárez Flores

Vocal:

Dr. José Luis Flores Flores

Proyecto realizado en:

Las comunidades Vicente Guerrero y Potrero del Carnero de la región *xiiuy* de La Palma, municipio de Rayón, S.L.P. y en los laboratorios del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Con financiamiento de:

PROMEP (Programa de Mejoramiento del Profesorado), bajo el Folio **UASLP-PTC-151**

FAI (Fondo de Apoyo a la Investigación) bajo el número de convenio **C08-FAI-10-37.73**

Dedicatoria.

*Esta tesis está dedicada a mis hermanas Yola y Any,
a mis padres, Yolanda y José Luis, a mis amigos,
y a todas aquellas personas que me han apoyado.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en particular al Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales, por la oportunidad de desarrollarme profesionalmente.

Al Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, por la oportunidad de trabajar y desarrollar el proyecto aquí.

A mis padres, por haberme apoyado en los momentos difíciles, y por alentarme a continuar y no rendirme.

A mis hermanas, Yola y Any, por su apoyo incondicional, por escuchar mis quejas y hacerme reír cuando lo necesitaba.

A la Dra. Erika, por aceptarme como su primer estudiante de maestría, por su guía y enseñanza en los momentos adecuados, por la confianza depositada en mí para realizar este trabajo, y por su apoyo en los momentos difíciles.

A Andrés, por aguantar mis momentos de estrés y continuar apoyándome y animándome para seguir y terminar esta tesis, y sobre todo, por su cariño y comprensión.

A mis asesores, la Dra. Bertha y el Dr. Fortanelli, por su guía y apoyo para llevar a cabo este trabajo.

A la Dra. Norma Cárdenas Ortega y a la Q.F.B. Flor Alejandra Hernández del Ángel por su colaboración en las determinaciones analíticas de los parámetros bioquímicos.

Al Dr. Gerson Alonso Soto Peña por su asesoría y participación en la parte inmunológica.

A Alejandra y Paola por la compañía en el laboratorio, las risas y el apoyo, y sobre todo, por la amistad que me han brindado.

A los alumnos del verano de la ciencia, Ángeles y Angélica, por la ayuda para cuidar a las ratas y aportar a este trabajo su compañía y amistad.

A la coordinación del programa IMSS – Oportunidades en San Luis Potosí, en particular a Juan Ramón Valladares Sánchez, analista estadístico; Ing. José Montoya Hernández, del Equipo de Supervisión de la Zona IX Ciudad Valles; Dra. Margarita Alcocer Lluvias, supervisora de Unidades Médicas Rurales; Jesús Mejía, coordinador del Equipo de Supervisión de la Zona IX Ciudad Valles del Programa IMSS – Oportunidades.

A la Facultad de Ciencias Químicas por su colaboración con el préstamo del pletismómetro.

A Yolanda Mora Mosqueda, de la Dirección de Planeación, Evaluación y Proyectos Especiales de la Secretaría de Salubridad.

A la enfermera Valentina Castro Castillo, encargada de la UMR de Vicente Guerrero, por la ayuda en la realización del trabajo de campo.

A las señoras Lidia, Antonia, Simona, Panchita y Eloy (†) por abrirnos las puertas de sus casas y compartir con nosotros su conocimiento sobre medicina tradicional, y por haber colaborado amablemente en este proyecto.

A la enfermera Benita Pecina Castillo, encargada de la UMR de La Palma, por la ayuda y apoyo para realizar el trabajo de campo en La Palma, y por presentarnos con su mamá, la Sra. Margarita, conocedora de plantas medicinales.

A la Sra. Felicitas Flores Castillo, partera de la comunidad de La Palma, por compartir su conocimientos sobre plantas medicinales con nosotros.

A mis compañeros de posgrado, Gely, Nelson, Luis, Juan Carlos, Erik, todos, por los momentos que hemos compartido juntos, el apoyo y la amistad.

A mis amigas, Ale, Yunnuén, Mayra y Ana por la amistad que me han dado por tantos años.

Y a todos aquellos que, de algún modo o de otro, estuvieron conmigo y me apoyaron a lo largo de este trabajo.

RESUMEN

El incremento en la ingesta de grasas, aunado a diversos factores como el sedentarismo y la predisposición genética, generan una acumulación de lípidos en el tejido adiposo (TA), que ocasionan el incremento de la concentración circulante de colesterol y triglicéridos, los cuales interfieren con la señalización del receptor de insulina en las células, provocando una resistencia a la insulina y un incremento en la concentración de glucosa que puede llevar a Diabetes mellitus tipo II (DM-II). Recientes estudios han demostrado que el factor inductor de las alteraciones metabólicas inicia en el tejido adiposo, a través de su capacidad secretora de proteínas metabólicamente activas llamadas adipocinas (AD). Estas proteínas participan activamente en la regulación de la inflamación crónica (IC) generada en respuesta a la obesidad. Tal IC se caracteriza por una producción excesiva de AD y citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-1 β e IL-6, y que son responsables en parte de la generación de la resistencia a la insulina, aunada con una disminución en la secreción de AD anti-inflamatorias como la adiponectina, la cual interactúa con la señalización de la insulina favoreciendo la recepción de la insulina, evitando así la generación de DM-II.

De acuerdo con lo anterior, es evidente la relación que existe entre la presencia del proceso inflamatorio del TA, derivado de la obesidad, y la resistencia a la insulina precursora de la inducción de DM-II.

En nuestro país, la DM-II es un problema de salud pública alarmante, y día a día se ve incrementada la incidencia de la enfermedad, incluso en las poblaciones indígenas. En estas últimas, el problema más acentuado en el incremento de casos se debe principalmente a la falta de prevención y diagnóstico temprano, así como a lo costoso de su tratamiento. Es por ello que el uso de la medicina tradicional en las comunidades indígenas es una práctica frecuente para contrarrestar sus problemas de salud. De acuerdo con lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo principal identificar a través de una exploración etnobotánica plantas con propiedades antiinflamatorias de la región *xí'uy* de La Palma en el municipio de Rayón de San Luis Potosí dentro de la Sierra Madre Oriental, con la finalidad de seleccionar a dos especies potenciales y de mayor uso en la comunidad indígena para ser valoradas experimentalmente, a través de un modelo de inflamación aguda, además, la especie de mayor efecto antiinflamatorio se valoró sobre un modelo de inflamación crónica derivado de una dieta rica en grasas.

Las especies que se seleccionaron con base en la exploración etnobotánica fueron: *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq. Se realizó la valoración del efecto anti-inflamatorio en un modelo *in vivo* de inflamación aguda y su capacidad inhibitoria sobre la secreción de citocinas proinflamatorias (CP). Se evaluó en extracto etanólico la dosis tradicional y el doble de esta, ajustadas a un periodo equivalente a 90 días de tratamiento. Ambos extractos mostraron un efecto sobre la inhibición de la secreción de CP, siendo el extracto de *C. urticifolia* en dosis de 0.088 mg/kg considerado para la evaluación de su efecto sobre la secreción de CP y de adiponectina en modelo *in vivo* de inflamación crónica derivado de una dieta rica en grasas. Los tratamientos se administraron diariamente (vía i.g), a partir con los 80 días de exposición con la dieta hasta un periodo de 140 días. De acuerdo con los resultados el extracto mostró la capacidad de disminuir la concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos. Así como también disminuyó la secreción de AD proinflamatorias TNF- α e IL-1 β , e indujo un aumento en la secreción de adiponectina en los grupos alimentados con la dieta rica en grasas.

Índice de contenido

	Pág.
1. Introducción	1
2. Justificación	2
3. Hipótesis	2
4. Objetivos	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
5. Estrategia experimental	3
5.1 Trabajo de exploración: Exploración etnobotánica de especies vegetales con propiedades anti-inflamatorias de la región <i>xí'iy</i> de La Palma, municipio de Rayón, San Luis Potosí	4
Resumen	4
Introducción	4
Metodología	6
Área de estudio	6
Selección de las comunidades	6
Selección de los informantes	6
Exploración del conocimiento tradicional	6
Recolecta e identificación de las especies	7
Selección de las especies	7
Resultados	8
Selección de las comunidades	8
Selección de los informantes	8
Exploración del conocimiento tradicional	9
Selección de las especies	10
<i>Hamelia patens</i> Jacq.	14
Descripción botánica	14
Distribución geográfica	15
Denominación vernácula	15
Usos medicinales	16
Posología tradicional	16
Diabetes mellitus	16
Cicatrización	16
Contusiones	17
Distensión abdominal	17
<i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC.	17
Descripción botánica	17
Distribución geográfica	18
Denominación vernácula	18
Usos medicinales	18
Posología tradicional	19
Diabetes mellitus	19
Dolor de estómago, vómito, diarrea, distensión abdominal	19
Gastritis	19
Conclusiones	19
Referencias	20
5.2 Experimento 1: Valoración del efecto anti-inflamatorio del	25

extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC y <i>Hamelia patens</i> Jacq.	
Resumen	25
Introducción	25
Metodología	27
Recolección del material vegetal	27
Preparación del material vegetal	27
Animales experimentales	27
Agente inductor del edema	28
Tratamientos	28
Evaluación <i>in vivo</i> del efecto anti-inflamatorio	28
Evaluación de las especies vegetales sobre la inhibición de la secreción de citocinas proinflamatorias	29
Análisis de resultados	29
Resultados	30
Evaluación <i>in vivo</i> del efecto anti-inflamatorio	30
Evaluación de las especies vegetales sobre la inhibición de la secreción de citocinas proinflamatorias	33
Discusión y conclusiones	36
Referencias	39
5.3 Experimento 2: Efecto del extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC. sobre la secreción de adiponectina en ratas macho Wistar sometidas a una dieta rica en grasas	43
Resumen	43
Introducción	44
Metodología	45
Recolección del material vegetal	45
Preparación del material vegetal	45
Animales experimentales	46
Tratamientos	46
Parámetros bioquímicos	47
Evaluación del efecto del extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> sobre la secreción de TNF- α , IL-1 β e IL-6	47
Evaluación del efecto del extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> sobre la secreción de adiponectina	48
Análisis de resultados	48
Resultados	49
Evaluación del efecto de la dieta rica en grasas	49
Evaluación del efecto del extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> sobre peso, consumo de alimento y agua	49
Evaluación del efecto del extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> sobre los parámetros bioquímicos	51
Evaluación del efecto del extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> sobre la secreción de TNF- α , IL-1 β e IL-6	54
Evaluación del efecto del extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> sobre la secreción de adiponectina	55
Discusión y conclusiones	56
Referencias	59
6. Conclusiones generales	62
7. Anexo I	64

Ejemplo de base de datos IMSS-Oportunidades	65
Formatos de entrevistas	66
Cuadro de frecuencias de selección de especies	68
8. Anexo II	69
Evaluación de la dieta rica en grasas	70
9. Anexo III	74
Hoja técnica de glucosa	75
Hoja técnica de colesterol total	76
Hoja técnica de triglicéridos	77
10. Referencias de la parte introductoria	78

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo II (DM-II) se caracteriza por hiperglucemia y alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas; dichas anomalías están relacionadas con la deficiencia absoluta o relativa de la acción o de la secreción de la insulina (ADA, 2002), así como a un estado de obesidad y al estilo de vida actual.

Estudios sobre la patología de DM-II han revelado que el mecanismo por el cual se genera la resistencia a la insulina, está asociado con la generación de un proceso inflamatorio en el tejido adiposo (TA). El incremento en la ingesta de grasas, aunado a diversos factores como el sedentarismo y la predisposición genética, ocasionan una acumulación de lípidos en el TA. El proceso inflamatorio ocurre en el TA debido a la secreción de citocinas proinflamatorias (CP) por parte de los adipocitos, así como por la infiltración de macrófagos hacia el TA. Las CP interfieren con la señalización del receptor de insulina en las células, generando resistencia a la insulina en los tejidos sensibles a la acción de esta hormona (Joussen *et al.*, 2002; Weisberg *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2003; Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005; Bastarrachea *et al.*, 2007; Hoareau *et al.*, 2010).

Sin embargo, se ha encontrado una relación inversa entre la secreción de CP y de adiponectina (adipocina secretada por el TA, con efecto anti-inflamatorio), lo que hace que la concentración de adiponectina sirva como indicador para la prevención de la resistencia a la insulina, y por ende, de DM-II (Musri, 2004; Domínguez, 2007; Antuna-Puente *et al.*, 2008; Elissondo *et al.*, 2008; Tilg y Moschen, 2008). Por lo tanto, lo anterior se dirige a que una respuesta inmunológica e inflamación sistémica pueden subyacer al desarrollo del síndrome de la resistencia a la insulina y como consecuencia a la DM-II. Por lo que es relevante llevar a cabo estudios e investigación sobre alternativas medicinales encaminadas a la prevención de la resistencia a la insulina.

En México la DM-II ocupa el primer lugar como causa de muerte desde el año 2000 (SSA, 2005); en parte, esto se debe al cambio en el estilo de vida, a la carencia de elementos básicos de tratamiento, a la falta de medidas adecuadas de prevención y a lo costoso de su tratamiento; siendo este último considerado como uno de los factores responsables más importantes del aumento de individuos enfermos con diabetes en los países en desarrollo (ADA, 2002).

Actualmente existen alternativas terapéuticas para el control de la DM-II como los hipoglucemiantes sintéticos, sin embargo estos no están exentos de provocar efectos secundarios al paciente diabético.

Por ello, en la actualidad se ha incrementado el uso de la medicina tradicional como un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo (Bermúdez *et al.*, 2005). La utilización de plantas como agentes terapéuticos se ha mantenido a lo largo del tiempo en nuestro país como una actividad fundamental, producto de la interacción y adaptación al medio a través del tiempo de los grupos étnicos (Estrada, 1989; Carrillo - Rosario y Moreno, 2006).

2. JUSTIFICACIÓN

La DM-II es una enfermedad crónica degenerativa, que desde el año 2000 ha sido considerada como la principal causa de mortalidad en nuestro país. Actualmente existe una amplia gama de alternativas vinculadas al control de ésta patología, con la finalidad de proporcionar al paciente diabético una mejor calidad de vida. Sin embargo, a pesar de que representan una gran valía, en ocasiones no están al alcance de la población en general, debido a que los tratamientos son muy costosos y de difícil acceso. De acuerdo con esto, la medicina tradicional ha sido considerada una alternativa para el tratamiento de esta enfermedad en los países en desarrollo como el nuestro.

En México existe una amplia diversidad de plantas utilizadas para el control de la hiperglucemia; sin embargo, sólo algunas de ellas han sido evaluadas farmacológicamente con la finalidad de corroborar el conocimiento tradicional indígena, asegurar su uso y reconocer posibles fuentes naturales potenciales para el tratamiento de DM-II. Los resultados que arrojan estos estudios, se han dirigido hacia la reducción de la concentración de glucosa en sangre, sin embargo a pesar de la valía de estos estudios, adolecen de estrategias farmacológicas encaminadas a la prevención de la generación de la enfermedad; la cual inicia a través de una resistencia a la insulina en las células; tal resistencia se puede generar a través del desarrollo de un proceso inflamatorio en el tejido adiposo, caracterizado por el aumento en la secreción de citocinas como TNF- α , y la disminución de la secreción de adipocinas como la adiponectina.

Por lo que se justifica la búsqueda e investigación de especies vegetales empleadas en medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios, capaces de prevenir la resistencia a la insulina a través de la modulación del proceso inflamatorio que se desarrolla en el tejido adiposo; y de esta forma contribuir en la búsqueda de alternativas naturales para la prevención y/o tratamiento de la DM-II, así como preservar los conocimientos sobre medicina tradicional, logrando así el resguardo de tradiciones que han pasado de generación en generación y que han sido amenazadas por la interacción de la vida moderna y la degradación de los recursos naturales.

3. HIPÓTESIS

Las comunidades de la región *xi'iuy* de La Palma, Rayón, S.L.P. emplean especies vegetales en medicina tradicional, para tratar la DM-II y padecimientos relacionados con procesos inflamatorios. Una exploración etnobotánica en dicha región permite la selección de las especies con efecto anti-inflamatorio más relevantes utilizadas por la población, susceptibles de estudios posteriores para la corroboración de su efecto farmacológico.

El extracto de las especies vegetales más importantes para la región *xi'iuy* de La Palma tiene efecto anti-inflamatorio a través de la inhibición de la secreción de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β e IL-6).

El extracto vegetal de la especie con mayor efecto anti-inflamatorio tiene la capacidad de modular la inflamación inducida por la ingesta de una dieta rica en grasas, mediante la inhibición de las citocinas proinflamatorias y de la inducción de la secreción de adiponectina.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Identificar y seleccionar especies vegetales empleadas en la región *xí'iyu* de La Palma para el tratamiento de DM-II y padecimientos relacionados con procesos inflamatorios, para valorar su capacidad inhibitoria sobre las citocinas proinflamatorias responsables de la inducción de la resistencia a la insulina.

4.2 Objetivos específicos

- Realizar una exploración etnobotánica en la región *xí'iyu* de La Palma, para identificar y seleccionar dos especies vegetales de mayor uso, para el tratamiento de DM-II y de padecimientos relacionados con procesos inflamatorios, mediante entrevistas en las comunidades con personas conocedoras del empleo de medicina tradicional.
- Valorar el efecto anti-inflamatorio de las dos especies vegetales seleccionadas, a través de un modelo de inflamación aguda y la secreción de citocinas proinflamatorias, para determinar la especie con mayor efecto anti-inflamatorio.
- Valorar el efecto de la especie seleccionada sobre la secreción de citocinas proinflamatorias y de adiponectina, en un modelo de inflamación crónica derivado de una dieta rica en grasas.

5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Esta parte se dividió en un trabajo de exploración y dos experimentos, que serán descritos a detalle en formato artículo.

Trabajo de exploración. **EXPLORACIÓN ETNOBOTÁNICA DE ESPECIES VEGETALES CON PROPIEDADES ANTI-INFLAMATORIAS DE LA REGIÓN *xí'iyu* DE LA PALMA, MUNICIPIO DE RAYÓN SAN LUIS POTOSÍ.**

Experimento 1. **VALORACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq.**

Experimento 2. **EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Calea urticifolia* (Mill.) DC. SOBRE LA SECRECIÓN DE ADIPONECTINA EN RATAS MACHO WISTAR SOMETIDAS A UNA DIETA RICA EN GRASAS.**

5.1. TRABAJO DE EXPLORACIÓN

EXPLORACIÓN ETNOBOTÁNICA DE ESPECIES VEGETALES CON PROPIEDADES ANTI-INFLAMATORIAS DE LA REGIÓN *xí'iu*y DE LA PALMA, MUNICIPIO DE RAYÓN SAN LUIS POTOSÍ

Guzmán Guzmán, P.¹; E. García-Chávez²; J. Fortanelli M.²; A. Covarrubias C².; A. Zermeño M.²

¹Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. UASLP.

²Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. UASLP.

RESUMEN

Los problemas de salud y de acceso a los medicamentos de patente por las poblaciones más desfavorecidas, han mantenido en un nivel alto de importancia a la medicina tradicional, en especial la referente al uso y manejo de plantas medicinales. México es un país que cuenta con un conocimiento amplio sobre el uso de plantas medicinales, en particular el efectuado por los grupos indígenas del país. En el estado de San Luis Potosí, la etnia *xí'iu*y tiene por tradición el empleo de plantas para curar diversas enfermedades, entre ellas la diabetes mellitus tipo II (DM-II) y otras relacionadas con procesos inflamatorios. Se llevó a cabo la exploración etnobotánica en dos comunidades de la región *xí'iu*y, Vicente Guerrero y Potrero del Carnero, con el objetivo de seleccionar dos especies vegetales con propiedades anti-inflamatorias bajo los criterios de mayor número de usos medicinales, mayor frecuencia de mención por parte de los informantes y menor información bibliográfica sobre la evaluación farmacológica de sus efectos; de acuerdo con la metodología empleada se eligieron las especies *Hamelia patens* Jacq. y *Calea urticifolia* (Mill.) DC. por su relevancia en las comunidades de estudio para el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios, y para la subsecuente valoración experimental de su efecto anti-inflamatorio.

1. INTRODUCCIÓN

La utilización de plantas como agentes terapéuticos se ha mantenido a lo largo del tiempo en nuestro país como una actividad fundamental, producto de la interacción y adaptación al medio, a través del tiempo, de los grupos étnicos (Estrada, 1989; Carrillo - Rosario y Moreno, 2006).

Se estima que en México hay aproximadamente unas 35,000 especies vegetales, de las cuales se considera que el 50% tienen propiedades medicinales (Mendoza *et al.*, 2002). De acuerdo con esto, las plantas han constituido un recurso valioso en los sistemas de salud en nuestro país; se estima que 46 millones de personas utilizan plantas medicinales como alternativa terapéutica, y que los principales usuarios y conocedores de este recurso medicinal son los grupos étnicos (Estrada, 1986; Mendoza *et al.*, 2002).

San Luis Potosí ocupa el 7° lugar en el país respecto al número de hablantes de lengua indígena; ellos representan el 10% de la población del Estado, y se dividen en 3 grupos étnicos *tének*, *náhuatl* y *xí'iu*y. Éste último es parte de los 17 grupos étnicos con menor población absoluta en la república mexicana y son así mismo, minoría respecto de los

Náhuatl y los *Téneks* con quienes comparten el actual suelo potosino (Comunidades indígenas, 2008).

La zona *xi'iu* se encuentra dividida en cuatro núcleos, de sur a norte (Chemin, 1984): Región de Santa María Acapulco; Región de La Palma; Región de Alaquines y Región de Ciudad del Maíz. De tales localidades, es Santa María Acapulco la que ha sido ampliamente investigada debido a que es considerada centro ceremonial e histórico de los *xi'iu* (Chemin, 1994). Por otra parte, actualmente se ha dirigido una intensa investigación de plantas con usos alimentarios en la región Tamasopo-Rayón, en la comunidad de Las Guapas, la cual corresponde a una de las localidades más representativa en el número de habitantes de éste grupo étnico (Carbajal, 2008).

Dentro de las tradiciones de los *xi'iu*, se encuentra el empleo de plantas medicinales para curar enfermedades y realizar rituales religiosos, conocimiento que se ha heredado por generaciones. Para este grupo étnico, las plantas tienen “poderes mágicos o sobrenaturales”; en particular, en la región Tamasopo-Rayón o La Palma, se piensa que “Dios ha dado plantas a los hombres y por lo mismo éstas pueden considerarse como ‘diositos’ ” (Chemin, 1984); por lo que el empleo de plantas para conservar la salud resulta una práctica culturalmente importante para las comunidades.

El uso de las plantas medicinales como alternativa terapéutica tiene auge a nivel mundial en la actualidad; esto se refleja en la cantidad de estudios enfocados a reconocer la efectividad de las plantas empleadas por diversos grupos indígenas (Llorach *et al.*, 2007; Bermúdez *et al.*, 2005). De acuerdo con esto, se ha hecho necesario realizar estudios etnobotánicos que permitan la selección de especies vegetales para llevar a cabo las evaluaciones químicas y farmacológicas de los efectos terapéuticos reconocidos por la población (Bermúdez *et al.*, 2005).

Dentro de la medicina tradicional, destaca el empleo de plantas con efectos anti-inflamatorios para tratar padecimientos gastrointestinales, enfermedades respiratorias y golpes, entre otros. Sin embargo, cabe destacar estudios recientes sobre diabetes mellitus (DM-II), en donde se ha reconocido una asociación entre la generación de un proceso inflamatorio y la resistencia a la insulina responsable, en parte, de la generación de la DM-II (Lozano, 2002; Krakof *et al.*, 2003; Recasens *et al.*, 2004; Téllez, 2005; Domínguez *et al.*, 2007). Enfermedad que de acuerdo con la Secretaría de Salud (SSA 2005), ocupa el primer lugar de causa de mortalidad en el país desde el año 2000, y su incidencia sigue en aumento constante, incluso en los pueblos indígenas (Van der Sande *et al.*, 2001). De acuerdo con estos antecedentes y con base en el conocimiento sobre el empleo de plantas medicinales para tratar distintas enfermedades por las comunidades indígenas, se procedió a realizar una exploración etnobotánica en la región *xi'iu* de La Palma, que permitiera la identificación y selección, dentro de un conjunto de plantas relacionadas con los procesos inflamatorios, de especies vegetales con mayor relevancia etnobotánica y menos estudiadas farmacológicamente. Por lo tanto, debido a circunstancias económicas y de tiempo, sólo fue factible la selección de dos especies para su estudio.

2. METODOLOGÍA

2.1 Área de estudio.

Este trabajo se centró en la región *x'i'uy* de La Palma, que abarca parte del sudoeste del municipio de Tamasopo y parte del este del municipio de Rayón, S. L. P., con una superficie aproximada de 34,780 ha. La vegetación varía desde selvas bajas y medianas con clima cálido subhúmedo, en el municipio de Tamasopo, hasta encinares y bosques de niebla en clima semicálido subhúmedo en las partes más elevadas de la región (Chemin, 1984; Fortanelli, com. pers., 2010). Las partes más secas del ejido La Palma corresponden a matorral submontano, ecotonos de selva baja caducifolia y bosque de encino (Castillo *et al.*, 2009; Torres, 2010), región en la que se encuentra la comunidad de Vicente Guerrero.

2.2 Selección de las comunidades.

Las comunidades del municipio de Tamasopo en la región de La Palma son: El Sabinito de Orozco, El Sabinito de Tepehual, El Sabinito Quemado, La Mesa Colorada, La Manzanilla, Agua Puerca, El Carrizo, Rincón de Ramírez, El Huizachal, Tierritas Blancas, El Nogalito, El Cañón de la Virgen, Copalillos, Cuesta Blanca, Laguna de Gómez, Cebadilla, Pozo del Saúz, El Tanque de Borrego, La Mojonera, Puerto Verde, Los Cuates, El Zacate, Verástegui, El Carrizalito Trompetero, y La Lagunita del Omal (o Lagunita de San Nicolás de los Montes). Las comunidades del municipio de Rayón pertenecientes a la región de La Palma son: Gamotes, La Chicharilla, El Sabinito Caballete, El Piruche, Vicente Guerrero, El Epazote, Tierras Coloradas, Las Canoas, La Nueva Reforma y Las Guapas (INEGI, 2005).

Para seleccionar las comunidades de estudio, se acudió a la Secretaría de Salud del Estado y a la coordinación estatal del programa IMSS – Oportunidades, para identificar, a través de los registros estadísticos anuales de 2006 hasta 2008 a las poblaciones con mayor frecuencia de padecimientos relacionados con DM, obesidad e inflamación, correspondientes a la región de La Palma.

2.3 Selección de los informantes.

Esta se realizó por muestreo de juicio (Aguirre, 1979); se seleccionaron informantes reconocidos por la población por su conocimiento sobre plantas medicinales o por su función social como curanderos, parteras o médicos tradicionales.

2.4 Exploración del conocimiento tradicional.

Se optó por realizar entrevistas dirigidas al hecho concreto (Aguirre, 1979), ya que permiten mayor profundización sobre los temas investigados. El proceso de las entrevistas se dividió en dos etapas. En la primera, las entrevistas se enfocaron a reconocer las plantas que los informantes empleaban para curar las enfermedades de interés; es decir, se realizaron preguntas como: *¿qué plantas se utilizan para curar las enfermedades comunes de la región?* A través de esto se obtuvo información de los nombres comunes de las plantas, el tipo de enfermedades que se tratan con medicina tradicional, la descripción de cada planta, sus usos generales y el lugar o lugares de recolecta.

En la segunda etapa, las entrevistas fueron dirigidas a obtener información más específica sobre las plantas de interés; así, la entrevista se dirigió inicialmente al *uso de las plantas potenciales*, de forma que se ratificara la información obtenida en las entrevistas anteriores. Luego se procedió a obtener de forma más detallada la preparación de los remedios, y el manejo, uso, posología y preparación del tratamiento. Para esto último, se pidió a las informantes que prepararan él o los remedios que conocían sobre las plantas de interés; de esta forma, se registraron con precisión datos como las partes usadas de la planta, cantidades, tiempos de cocción y de reposo, la duración del tratamiento, y, en su caso el nombre *xi'iyu*.

2.5 Recolecta e identificación de las especies.

La recolecta de las especies se llevó a cabo en compañía de las informantes, las cuales indicaron los lugares donde recolectaban usualmente las plantas ya fuese en el poblado o sus alrededores, o bien en sus solares. Esta recolecta se llevó a cabo durante las diversas visitas a las comunidades, entre julio 2008 y marzo 2009. Los ejemplares vegetales recolectados se llevaron al herbario "Isidro Palacios" del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, para que fueran identificados por el taxónomo José García Pérez, curador del herbario.

2.6 Selección de las especies.

De la exploración preliminar sobre el uso de las plantas medicinales, se obtuvo información sobre su aprovechamiento en el tratamiento de diversas enfermedades como diabetes, enfermedades gastrointestinales, respiratorias, renales, urinarias y cardiovasculares, así como contusiones, entre otras. En esta fase también se obtuvieron los nombres comunes de las plantas en castellano y ocasionalmente en *xi'iyu*. Posteriormente se llevó a cabo una selección más dirigida de especies vegetales, en este caso, de aquellas empleadas en el tratamiento de procesos inflamatorios y de la DM-II. Los criterios aplicados en la identificación de las especies potenciales fueron:

1. Plantas con mayor número de usos medicinales, relacionados con DM y procesos inflamatorios.
2. Plantas con mayor frecuencia de uso por parte de los informantes.
3. Plantas con menor información bibliográfica sobre la evaluación de efectos farmacológicos y/o usos medicinales reportados.

Una vez que se dispuso de esta información se eligieron aquellas plantas que fueron mencionadas por las informantes con mayor frecuencia en las enfermedades de interés, y además tuvieran un mayor número de usos para estas enfermedades (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2004; Bermúdez *et al.*, 2005; Hernández *et al.*, 2005); lo que sirvió como referencia para la selección de las dos especies relevantes para su estudio.

3. RESULTADOS

3.1 Selección de las comunidades.

Se identificaron las comunidades potenciales por la presencia de poblaciones con mayor frecuencia de padecimientos relacionados con DM-II, obesidad e inflamación; la información estadística de las organizaciones de salud se corroboró con el personal de las respectivas unidades médicas rurales de la zona (ubicadas en Vicente Guerrero y en La Palma), así como con la población en general.

De acuerdo con los datos de las unidades médicas rurales de la región de La Palma, las enfermedades con mayor número de casos, en orden decreciente son: conjuntivitis, diabetes mellitus tipo II, gingivitis y enfermedades periodontales, otitis media aguda, úlceras, gastritis, duodenitis y vaginitis aguda; el mayor número de casos se registró en las comunidades de Vicente Guerrero, Potrero del Carnero, Cuesta Blanca y La Palma. Tales comunidades se eligieron con base en los siguientes criterios:

1. Contar con población diabética, de acuerdo con la información del centro de salud correspondiente.
2. Tener antecedentes del conocimiento y manejo de plantas medicinales en la comunidad, ya sea por curanderos, parteras o por la población en general.
3. Contar preferentemente con población indígena *x'i'uy* y mestiza.
4. Disponibilidad de la población para participar *en* el proyecto.

Con base en estos criterios, las comunidades seleccionadas fueron Vicente Guerrero y Potrero del Carnero.

3.2 Selección de los informantes.

En la comunidad de Vicente Guerrero, siguiendo el muestreo de juicio ya señalado, se eligió a dos informantes, la Sra. Lidia Hernández Aguilar, de 46 años de edad, y la Sra. Antonia Castillo Resendiz, de 60 años. Son personas con quien la población suele acudir en busca de remedios tradicionales; sin embargo, ellas no se consideran curanderas. La señora Lidia aprendió de su mamá, quien tampoco se decía curandera, pero tenía conocimiento sobre el uso de algunas plantas para tratar las enfermedades más comunes. La señora Antonia aprendió a curar de su hermano, quien sí era curandero y, a su vez, había aprendido de un curandero de Las Guapas.

En la comunidad de Potrero del Carnero, se eligieron tres informantes. La Sra. Simona Sifuentes Castillo, de 48 años de edad, quien es asistente rural de la comunidad y se mantiene frecuentemente en contacto con el programa IMSS – Oportunidades para el uso de la medicina tradicional, por lo que tiene conocimiento sobre el uso de plantas medicinales; la Sra. Francisca Álvarez, de 77 años, quien ha ido aprendiendo sobre plantas medicinales por experiencias propias o por conocimientos compartidos con un familiar; y la Sra. Elodia Álvarez (†), de 70 años de edad, quien a su vez adquirió el conocimiento sobre plantas medicinales por experiencias propias y con familiares.

3.3 Exploración del conocimiento tradicional.

De la exploración etnobotánica de plantas medicinales realizada a la población en general en la zona de estudio, se obtuvo una lista de 59 plantas, con sus nombres comunes, utilizadas para distintas enfermedades, de las cuales se mencionaron 22 con utilidad en más de un padecimiento (Cuadro 1).

Cuadro 1. Nombres comunes de plantas empleadas para distintas enfermedades en las comunidades de Vicente Guerrero y Potrero del Carnero.

ENFERMEDAD	PLANTAS UTILIZADAS ¹
Dolor de estómago	Estafiate, prodigiosa, epazote, gobernadora, negro, aquiche
Dolor en general	Ruda, negrito, hierba del golpe
Dolor de muelas	Orejona, higrón, chilcuague, ajo, tepame, amor detrás de la puerta
Dolor de cabeza	Negrito
Dolor de huesos	Hierbabuena
Inflamación	Sábila, hierba del golpe, bálsamo, negro, ruda, hierba del cáncer, romero
Gastritis	Ceiba, cáscara sagrada, negrito, sábila
Golpes	Sábila, árnica, hierba del golpe, maduraplátano, cuachalalá
Fracturas	Sacasil
Cortaduras	Hierba del toro, hierba de la golondrina, árnica
Diabetes mellitus	Negrito, alpiste, sábila, nopal, níspero, gobernadora, lantrisco, cuachalalá, berro, maduraplátano, palo amole, cáscara sagrada
Hipertensión	Negrito, alpiste, palo amole, maduraplátano, limón
Diarrea	Real de oro, negrito, estafiate, epazote, prodigiosa
Vómito	Menta, aguacate, real de oro, manzanilla
Gripa	Hierbabuena, limón
Tos	Chayote, lino, bugambilia anaranjada, quiche o guásima, bugambilia morada, orégano
Pulmonía	Ruda
Calentura	Perejil
Resfriado	Aquiche
Empacho	Negro
Riñones	Hierba del burro, cola de caballo, vara dulce, elote, piña
Nervios	Azahar, limón, tila
Vista	Manzanilla, níspero, siempreviva
Oídos	Rosa de castilla, albahaca
Cáncer	Ruda, cancerina, romero
Quemaduras	Platanillo
Erisipela	Hierba del niño

Cólicos de bebés	Durazno
Desparasitante	Sauco
Abortar	Ruda
Bilis	Negro
Granos en la boca	Rosa de castilla
Hemorroides	Paixtle
Mordedura de serpiente	Floripondio, carrizo
Arrojar placenta	Aquiche, cocolmeca
¹ Se consignan sólo nombres comunes debido a que fue información obtenida de entrevistas, no de recolecta.	

3.4 Selección de las especies.

De este conjunto (Cuadro 1), se seleccionaron aquellas plantas relacionadas con la DM, contusiones y gastritis, por su asociación con procesos inflamatorios (esto, con la finalidad de ir acotando la información obtenida para detallarla en posteriores entrevistas); con esto, el número se redujo a una lista de 13 plantas (Cuadro 2). Para éste grupo se conjuntó información más detallada para cada especie y se procedió a su identificación taxonómica, y posteriormente a la descripción de la preparación del tratamiento o “remedio” indicado por las informantes (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos y usos medicinales de plantas con propiedades anti-inflamatorias e hipoglucemiantes.

ESPECIE	NOMBRE COMÚN	PARTES USADAS	OTROS PRODUCTOS	POSOLOGÍA	ADMINISTRACIÓN	USOS MEDICINALES
<i>Acalypha arvensis</i> Poepp & Endl.	Hierba del cáncer	Hojas y tallos	<i>Hamelia patens</i> (hojas); sal	Infusión	Oral y tópica	Inflamación
					Tópica	Lavado de heridas
<i>Aloe Barbadosensis</i> Mill.	Sábila	Hojas		Licudo	Oral	Diabetes mellitus
				Asado	Tópica	Gastritis
						Inflamación
		Contusiones				
<i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC.	Hierba del negro, negrito, negro	Hojas		Infusión	Oral	Quemaduras
						Diabetes mellitus
						Gastritis
						Dolor de estómago
<i>Colubrina elliptica</i> (SW) Briz. & W.L. Stern	Palo amole	Corteza		Infusión	Oral	Vómito
						Diarrea
<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Níspero	Hojas	<i>Persea americana</i> y <i>Psidium guajava</i> (Hojas)	Infusión	Oral	Diabetes mellitus
<i>Eupatorium</i> sp.	Amargosa	Hojas		Infusión	Oral	Visión
<i>Gaura coccinea</i> Pursh	Hierba del golpe	Hojas	Arroz cocido	Infusión y maceración	Oral y tópica	Diabetes mellitus
						Torceduras
<i>Hamelia patens</i> Jacq.	Maduraplátano	Hojas	<i>Salmea scandens</i> (Hojas y tallos)	Decocción	Tópica	Diabetes mellitus
						Inflamación
						Cicatrización
<i>Larrea tridentata</i>	Gobernadora	Hojas y tallos		Infusión	Oral	Contusiones
<i>Oenothera rosea</i> L'Her. Ex Aiton	Hierba del golpe	Hojas y tallos		Decocción	Tópica	Diabetes mellitus
<i>Salmea scandens</i> (L.) DC.	Árnica	Hojas y tallos		Decocción	Tópica	Contusiones
<i>Stevia rhombifolia</i> Kunth.	Hierba del burro	Hojas y tallos		Decocción	Tópica	Contusiones
						Torceduras
						Irritación
<i>Tabebuia roseae</i> (Bertol.) DC.	Cuachalalá, Palo de rosa	Corteza		Decocción	Oral	Contusiones

Del total de las 13 especies, *Hamelia patens* Jacq., fue la única con uso ornamental, las demás especies son exclusivamente de uso medicinal.

Los resultados obtenidos sobre la preparación de los tratamientos, mostraron que el 46.7% se preparan en forma de infusión, el 33.3% como decocción, y el 20% como licudo o maceración; con respecto a la parte vegetal empleada para preparar el tratamiento el 46.2% está hecho a base de hojas (los remedios se preparan con las hojas frescas, sin embargo, los informantes aclaran que también se pueden preparar con las hojas secas,

pero debe tenerse cuidado de poner a secar las hojas a la sombra y no al sol, pues éste anula las propiedades curativas de las plantas), el 38.5% emplea hojas y tallos, y el 15.4% emplea la corteza.

En relación con la vía de administración, la oral es la más frecuente (50%), seguida de la tópica (37.5%) y la combinación de ambas (12.5%).

El Cuadro 3 muestra la frecuencia de uso y de mención de las 13 especies seleccionadas, así como los usos medicinales que las informantes atribuyeron a cada una de las especies. Las informantes mencionaron nueve usos medicinales diferentes para estas especies, y el total de menciones fue de 61 veces.

Cuadro 3. Frecuencia de uso y de mención de las especies seleccionadas.

ESPECIE	USOS MENCIONADOS	NÚMERO DE USOS		MENCIÓN	
		Frec. Absoluta	Frec. Relativa	Frec. Absoluta	Frec. Relativa
<i>Acalypha arvensis</i> Poepp & Endl.	Anti-inflamatorio, cicatrizante	2	22.2	4	6.5
<i>Aloe barbadensis</i> Mill.	Hipoglucemiante, anti-inflamatorio, anti-hipertensivo, cicatrizante, para tratar distensión abdominal y gastritis	6	66.7	15	24.6
<i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC.	Hipoglucemiante, anti diarreico, anti vomitivo, para tratar distensión abdominal, gastritis y empacho, así como estimulante del apetito.	4	44.4	11	18.0
<i>Colubrina elliptica</i> (SW) Briz. & W.L. Stern	Hipoglucemiante	1	11.1	3	4.9
<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Hipoglucemiante, mejorador de la visión	2	22.2	4	6.5
<i>Eupatorium</i> sp.	Hipoglucemiante	1	11.1	1	1.6
<i>Gaura coccinea</i> Pursh.	Anti-inflamatorio	1	11.1	2	3.3
<i>Hamelia patens</i> Jacq.	Hipoglucemiante, cicatrizante, anti-inflamatorio, anti-hipertensivo y para tratar distensión abdominal.	5	55.5	10	16.4
<i>Larrea tridentata</i>	Hipoglucemiante	1	11.1	1	1.6
<i>Oenothera rosea</i> L'Her. Ex Aiton	Anti-inflamatorio	1	11.1	4	6.5
<i>Salmea scandens</i> (L.) DC.	Anti-inflamatorio, cicatrizante	2	22.2	4	6.5
<i>Stevia rhombifolia</i> Kunth.	Anti-inflamatorio	1	11.1	1	1.4
<i>Tabebuia roseae</i> (Bertol.) DC	Anti-inflamatorio	1	11.1	1	1.6

Del total de padecimientos que se tratan con estas 13 especies, *Aloe barbadensis* se emplea en el 66.7% de los casos, *Hamelia patens* en el 55.5% y *Calea urticifolia* en el 44.4%. *Aloe barbadensis* fue la especie que se mencionó con mayor frecuencia (24.6%) por los informantes, seguida de *Calea urticifolia* (18.0%) y de *Hamelia patens* (16.4%).

Para el tratamiento de DM, se mencionaron las especies *Eupatorium* sp., *Larrea tridentata*, *Hamelia patens*, *Calea urticifolia*, *Eriobotrya japonica*, *Colubrina elliptica* y *Aloe*

barbadensis; para el tratamiento de contusiones e inflamación se emplean las especies *Salmea scandens*, *Tabebuia roseae*, *Stevia rhombifolia*, *Acalypha* spp., *Oenothera rosea*, *Hamelia patens* y *Aloe barbadensis*; y para el tratamiento de gastritis se usan las especies *Calea urticifolia* y *Aloe barbadensis*.

De acuerdo con los resultados anteriores se seleccionaron aquellas especies que cuentan con un mayor número de usos medicinales y que son más empleadas por las informantes: *Aloe barbadensis* Mill., *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq.

La selección de las especies con mayor relevancia etnobotánica para las comunidades Vicente Guerrero y Potrero del Carnero se llevó a cabo a través de un tercer criterio de selección, que se basó en la búsqueda bibliográfica de los efectos farmacológicos ya reconocidos y valorados experimentalmente de cada especie (Cuadro 4), lo que permitió señalar dos especies importantes para su posterior estudio farmacológico y la comparación de su efecto anti-inflamatorio.

Para *Aloe barbadensis*, se han reportado diversos usos, entre los que destacan sus efectos antioxidante, anti-inflamatorio, antibacterial, cicatrizante e hipoglucemiante, entre otros (Alcorn, 1984; Román-Ramos *et al.*, 1991; Hutter *et al.*, 1996; Okyar *et al.*, 2001; Tanaka *et al.*, 2006; Habeeb *et al.*, 2007; citado en Bang *et al.*, 2009; George *et al.*, 2009; Pandey y Mishra, 2009). En esta investigación etnobotánica se encontró que *Aloe barbadensis* se emplea como hipoglucemiante, anti-inflamatorio, anti-hipertensivo, para tratar gastritis y distensión abdominal, y como auxiliar en la curación de quemaduras, lo que concuerda en parte con la bibliografía reportada anteriormente, y con los intereses de este trabajo como especie vegetal con propiedades anti-inflamatorias e hipoglucemiantes.

Hamelia patens Jacq., mostró tener efectos antibacterial, antiespasmódico, anti-inflamatorio, antidiarréico, analgésico, antifúngico, antianémico, antihemorrágico, antipirético y cicatrizante (Alcorn, 1984; Pérez *et al.*, 1996; Sosa *et al.*, 2002; Arvigo *et al.*, 2003; Gomez-Beloz *et al.*, 2003; Reyes-Chilpa *et al.*, 2004; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006). En la exploración etnobotánica se encontró que *Hamelia patens* Jacq., es empleada como hipoglucemiante, anti-inflamatorio, cicatrizante, anti-hipertensivo, y para tratar distensión abdominal, corroborándose algunos de sus usos con la bibliografía consultada, pues de acuerdo con los intereses del trabajo, ya se ha reportado su efecto anti-inflamatorio (Sosa *et al.*, 2002; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006) y su uso como hipoglucemiante (Andrarde-Cetto y Heinrich, 2005; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Para *Calea urticifolia* (Mill.) DC. se ha reportado que tiene efecto anti fúngico, antioxidante, bactericida, y para el tratamiento de úlceras gástricas, entre otros (Matsuura *et al.*, 2005; Gamboa-Angulo *et al.*, 2008; Umemura *et al.*, 2008). En nuestra exploración etnobotánica se encontró que *Calea urticifolia* se utiliza como hipoglucemiante, anti diarreico, antivomitivo para tratar gastritis y distensión abdominal, así como en afecciones comunes del sistema digestivo en general. No se tiene conocimiento documentado de la valoración experimental de su efecto anti-inflamatorio.

Cuadro 4. Revisión bibliográfica de la valoración experimental de las especies de interés.

ESPECIE	ACCIÓN FARMACOLÓGICA/ PROPIEDADES MEDICINALES REPORTADAS	REFERENCIA
<i>Aloe barbadensis</i> Mill.	Antioxidante	Bang <i>et al.</i> , 2009
	Antinociceptivo	Bang <i>et al.</i> , 2009
	Anti-inflamatorio	Alcorn, 1984; Hutter <i>et al.</i> , 1996; Habeeb <i>et al.</i> , 2007; Bang <i>et al.</i> , 2009
	Antibacterial	George <i>et al.</i> , 2009; Pandey y Mishra, 2009
	Cicatrizante	Alcorn, 1984; Yao <i>et al.</i> , 2009
	Hipoglucemiante	Román-Ramos <i>et al.</i> , 1991; Okyar <i>et al.</i> , 2001; Tanaka <i>et al.</i> , 2006.
	Citotóxico	Ávila <i>et al.</i> , 1997
<i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC.	Antifúngico	Gamboa-Angulo <i>et al.</i> , 2008
	Inhibición de preadipocitos	Matsuura <i>et al.</i> , 2005
	Citotóxico	Nakagawa <i>et al.</i> , 2005; Ohguchi <i>et al.</i> , 2009
	Antioxidante	Umemura <i>et al.</i> , 2008
	Para tratar úlcera gástrica	Matsuura <i>et al.</i> , 2005
	Bactericida	Matsuura <i>et al.</i> , 2006
<i>Hamelia patens</i> Jacq.	Citotóxico	Mena-Rejón <i>et al.</i> , 2008
	Antibacterial	Arvigo <i>et al.</i> , 2003; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006
	Hipoglucemiante	Andrade-Cetto y Heinrich, 2005; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009.
	Cicatrizante	Alcorn, 1984; Gomez-Beloz <i>et al.</i> , 2003
	Antiespasmódico	Reyes-Chilpa <i>et al.</i> , 2004
	Anti fúngico	Alcorn, 1984
	Antipirético	Alcorn, 1984
	Anti diarreico	Alcorn, 1984; Pérez <i>et al.</i> , 1996
	Anti anémico	Alcorn, 1984
	Anti-inflamatorio	Sosa <i>et al.</i> , 2002; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006
	Anti hemorrágico	Alcorn, 1984
	Analgésico	Reyes-Chilpa <i>et al.</i> , 2004; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006.

Conjuntando los tres criterios de selección para las especies establecidos, se eligieron *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq.; se excluyó *Aloe barbadensis* Mill. por ser una especie con mayor número de estudios, y por el interés de aportar nuevos conocimientos sobre otras especies.

3.5 *Hamelia patens* Jacq.

3.5.1 Descripción botánica. Es un arbusto de la familia Rubiaceae, de 1 a 4 m de alto, con estípulas triangulares de 2 a 4 mm de largo; sus hojas son opuestas en verticilos de 3 o 4, de 5 a 23 cm de largo y puntiagudas, pecíolos de color rojo–púrpúreo de 0.5 a 5.5 cm de largo. Presenta inflorescencia terminal, con ejes arqueados y generalmente dividido en

dos, las flores están erguidas sobre los ejes. Las flores son de color amarillo oscuro, anaranjado o rojo; cáliz acampanado con cinco dienteccillos triangulares, lóbulos del cáliz aovados de 0.5 a 1 mm de largo; corola larga y tubular terminada en cinco lóbulos. El fruto es carnoso, globoso y de color rojo, cambia a color negro cuando está maduro; de 7 a 10 mm de largo y tiene semillas numerosas, regulares a irregulares, lustrosas, de 0.6 a 0.9 mm de largo (Rzedowski y Calderón, 2001; Stevens *et al*, 2001; CONABIO, 2006) (Figura 4 a y b).

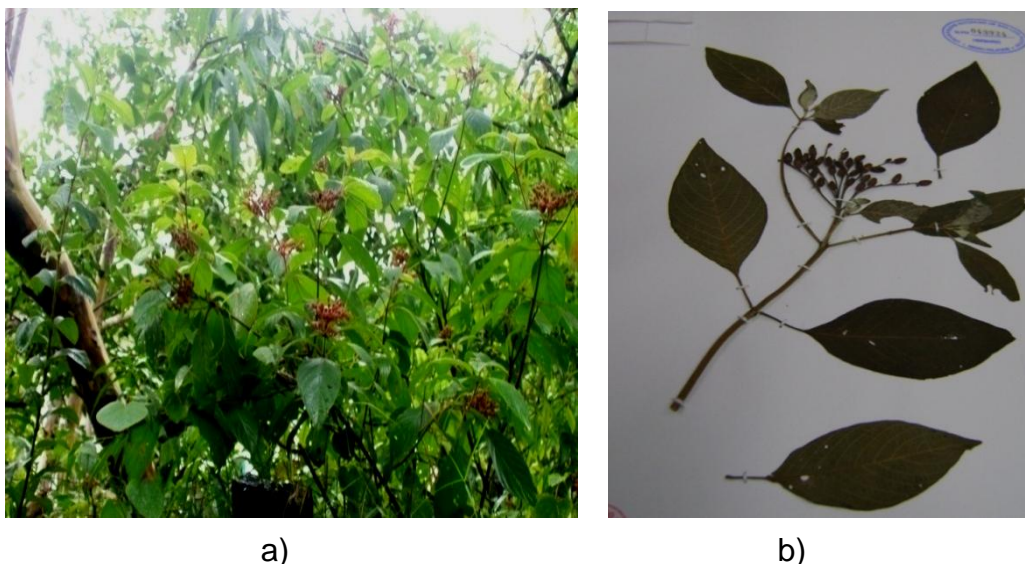


Figura 4. a) *Hamelia patens* Jacq. Fotografía tomada por María de los Ángeles Zermeño Macías, Portrero del Carnero, Tamasopo, S.L.P. **b)** *Hamelia patens* Jacq. Ejemplar N° 043924 del herbario “Isidro Palacios” (SLPM) del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. Fotografía proporcionada por el taxónomo José García.

3.5.2 Distribución geográfica. Se encuentra distribuida desde Florida hasta Sudamérica, habita en climas cálidos y semicálidos, a altitudes de 8 a 1100 m. Se asocia a ecosistemas perturbados de selva baja caducifolia, bosques de encino y bosques de pino, entre otros (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). En México, se encuentra en los estados de Campeche, Chiapas, Colima, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México D.F., Morelos, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán (CONABIO, 2006).

3.5.3 Denominación vernácula. Se le conoce por distintos nombres comunes, entre ellos mazamora, coralillo, hierba santa cimarrón, hierba coral, balletilla, tochomite o trompetilla (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009; CONABIO, 2006). También se le conoce con los siguientes nombres en lengua indígena: en Puebla, *imegchichi* (náhuatl), *maktantulon* (totonaco), *tohtu* (otomí); en Quintana Roo, *chache*, *chakloc*, *chaktok*, *k'anan*, *x-kanan* (maya); en Veracruz, *canhoc*, *xixcuy*; en el estado de Yucatán, *chak took'*, *k'anan xiw*, *xk'anan* (maya); y en el estado de San Luis Potosí se le conoce

como *k'entsel te',tsak lok* en tenek (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

3.5.4 Usos medicinales. se le han atribuido distintos usos medicinales entre los que destacan su actividad citotóxica en células de cáncer cérvico – uterino (Mena-Rejón *et al.*, 2008), antibacterial (Arvigo *et al.*, 2003; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006), para ayudar a la cicatrización (Alcorn, 1984; Gomez-Beloz *et al.*, 2003), como antiespasmódico (Reyes-Chilpa *et al.*, 2004), anti diarreico (Alcorn, 1984; Pérez *et al.*, 1996), anti-inflamatorio (Sosa *et al.*, 2002; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006), analgésico (Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006; Reyes-Chilpa *et al.*, 2004), anti fúngico, antianémico, antipirético, antihemorrágico (Alcorn, 1984), para problemas ginecológicos (Reyes-Chilpa *et al.*, 2004; Biblioteca Digital de Medicina Tradicional Mexicana, 2009); también se ha reportado su uso como hipoglucemiante para tratar la DM tipo II, para detener hemorragias, disentería, tratar úlceras gástricas y dolores de estómago y de muelas, por mencionar algunos (Biblioteca Digital de Medicina Tradicional Mexicana 2009).

En la comunidad de Potrero del Carnero, *H. patens* es utilizada para tratar la DM contusiones, distensión abdominal, para ayudar a cicatrizar y para lavar las heridas, así como para la hipertensión. En esta comunidad, según las informantes, únicamente se emplean sus hojas, y la forma de preparación, ya sea infusión o decocción, depende del uso medicinal al que se vaya a destinar: infusión si se utiliza para tratar la diabetes mellitus, y decocción si se emplea para desinflamar o cicatrizar.

Esta especie, se recolecta a la orilla del río, de caminos y sobre el cerro. Sólo algunas pocas personas conservan la especie en su solar, especialmente con fines ornamentales ya que les agrada su color rojo intenso y la forma peculiar de sus flores.

3.5.5 Posología tradicional. De acuerdo con la exploración etnobotánica se obtuvo la posología de los tratamientos de interés para este trabajo:

Diabetes mellitus

Tratamiento de DM. Se hierve un litro de agua, en punto de ebullición se agregan de 6 a 8 hojas (en promedio, 1.6 g de hojas frescas o 0.36 g de hojas secas) de *H. patens* y se deja hervir por 3 a 5 minutos más; luego y se deja enfriar, para beber la infusión como agua de uso hasta que hay evidencia de control en la concentración de glucosa en la sangre, y el paciente se sienta mejor.

Recomendaciones. Debe prepararse la cantidad necesaria para un día, en caso de que se tome como agua de uso. También se puede dosificar tres veces al día (por la mañana, tarde y noche) hasta lograr el control de la glucosa.

Cicatrización

Como cicatrizante. Se ponen a hervir 5 l de agua. Cuando ya está en ebullición, se agregan varias hojas de la planta (en promedio, 15 a 20 hojas, equivalentes a aproximadamente 4 g de hojas frescas o 1 g de hojas secas) y se dejan hervir por 15

minutos; después del baño diario, se lavan las heridas con esta infusión hasta que concluya la cicatrización.

Recomendaciones. Se pueden añadir a la infusión unas hojas de árnica (*Salmea scandens* (L.) DC.), y aplicar fomentos de esta mezcla varias veces al día, hasta cicatrizar.

Contusiones

Tratamiento. Se hierve la cantidad de agua necesaria, según el tamaño de la parte afectada, y se colocan varias ramas de la planta (según se necesiten). Después del inicio de la ebullición se deja hervir 10 minutos; luego se aplican fomentos en la parte afectada, hasta que el agua se sienta fría. Se continúa con el tratamiento hasta que el golpe haya desinflamado completamente.

Recomendaciones. Se puede hervir también junto con árnica (*Salmea scandens* (L.) DC.).

Distensión abdominal

Tratamiento. Se pone a hervir medio litro de agua; cuando ya está hirviendo, se agregan tres hojas de la planta (en promedio, 0.81 g de hojas frescas o 0.18 g de hojas secas) y tres hojas (en promedio, 3.4 g de hojas frescas o 0.70 g de hojas secas) de árnica (*Salmea scandens*). Se deja en hervor de 3 a 5 minutos, luego se apaga el fuego y se deja enfriar un poco; se toman dos tazas al día, una por la mañana y otra por la noche. Se guarda el resto y se bebe de igual forma al día siguiente, hasta sentir mejoría.

3.6 *Calea urticifolia* (Mill.) DC.

3.6.1 Descripción botánica. Es un arbusto de la familia Asteraceae; mide entre 1 y 3 m de altura, a veces leñoso en la base. Las hojas son de forma ovada, dentadas (de 6 a 12 dientes en cada lado), lustrosas y rasposas por ambos lados, pilosas, un poco lanceoladas, comúnmente rugosas y trinervadas, generalmente de 5 a 11 cm de largo, son opuestas, así como las ramas; las hojas superiores suelen estar reducidas en tamaño, y si están en ramas con flor, son todavía de menor tamaño que las hojas en la rama principal. Las flores son elípticas de 2 a 3 mm de ancho, de color amarillo intenso o pálido, con puntas obtusas (Rzedowski y Calderón, 2001; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009); Figura 5 a y b.



a)



b)

Figura 5. a) *Calea urticifolia* (Mill.) DC. Fotografía tomada por Alejandra Covarrubias Camarillo, Vicente Guerrero, Rayón, S.L.P. **b)** *Calea urticifolia* (Mill.) DC. Ejemplar N° 737 del herbario “Isidro Palacios” SLPM del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, proporcionada por el taxónomo José García.

3.6.2 Distribución geográfica. Se puede encontrar desde México hasta Panamá, entre los 22 y 1800 msnm. Es una planta de clima cálido y semicálido, asociada a ecosistemas de selva baja caducifolia, bosques tropicales subcaducifolio, subperenifolio, perenifolio y bosques de encino y pino. Normalmente se encuentra en terrenos abiertos y a orillas de caminos (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Se puede encontrar en los estados de Aguascalientes, Chiapas, Colima, Durango, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz, Zacatecas (García, 1999).

3.6.3 Denominación vernácula. Se le conoce con distintos nombres comunes, entre ellos jaral de castilla, chilchaca, jarilla, tacote (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009), hierba del negro, negro, negrito (comunidades de Vicente Guerrero y Potrero del Carnero), y como juanislama en El Salvador (Matsuura *et al.*, 2005).

3.6.4 Usos medicinales. Entre los usos medicinales que se han reportado para *C. urticifolia* se encuentran los siguientes: problemas de la piel (granos, irritación), para sanar llagas, para destetar a los niños (untándose en los pezones, por su sabor amargo), en el tratamiento de disentería, vómito, tos (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009), como anti fúngico (Gamboa-Angulo *et al.*, 2008), para el tratamiento de úlceras gástricas, y como bactericida (Matsuura *et al.*, 2006), así como también se ha reportado su efecto citotóxico en células de cáncer de colon y anemia (Nakagawa *et al.*, 2005; Ohguchi *et al.*, 2009) y su efecto antioxidante (Umemura *et al.*, 2008).

Tanto en las comunidades Vicente Guerrero como Potrero del Carnero, la población hace uso de *C. urticifolia* para tratar la DM ya que, de acuerdo con los informantes, las plantas que tienen un sabor amargo sirven para contrarrestar el “azúcar en la sangre” (i.e. diabetes mellitus), y la hierba del negro tiene un sabor muy amargo. También es muy

empleada para tratar problemas gastrointestinales en general, como dolor de estómago, diarrea, vómito, gastritis y distensión abdominal. Para la preparación de los remedios, únicamente emplean las hojas, en una cantidad muy pequeña ya que, si se usan muchas, la infusión no se puede beber por su sabor muy desagradable.

Las personas recolectan esta especie a la orilla de los caminos, especialmente en época de lluvias, cuando se puede encontrar en mayor abundancia. No se tiene registrado otro uso local diferente al medicinal.

3.6.5 Posología tradicional. De acuerdo con la exploración etnobotánica se obtuvo la posología de los tratamientos de interés para este trabajo:

Diabetes mellitus

Tratamiento. Se pone a hervir una taza de agua (256ml); cuando ya está hirviendo, se le agregan 2 hojas de la planta (en promedio, 0.49 g de hojas frescas o 0.13 g de hojas secas), se deja en hervor de 3 a 5 minutos, luego se retira el recipiente del fuego para que se enfríe. Esta infusión se bebe dos veces al día, una por la mañana en ayunas, y otra por la tarde. Se continúa el tratamiento hasta que el paciente sienta mejoría y se controle la concentración de glucosa en la sangre.

Recomendaciones. Utilizar hojas pequeñas, pues el sabor es muy amargo.

Dolor de estómago, vómito, diarrea, distensión abdominal

Tratamiento. Se añaden dos hojas pequeñas (en promedio, 0.49 g de hojas frescas o 0.13 g de hojas secas) en una taza de agua hirviendo y se deja en hervor por 3 a 5 minutos; se toma una vez al día, por la mañana – de preferencia en ayunas– hasta sentir mejoría.

Gastritis

Tratamiento. Se pone a hervir una taza de agua (256ml) y se agregan dos hojas de la planta (en promedio, 0.60 g de hojas frescas o 0.14g de hojas secas); se dejan hervir de 3 a 5 minutos. Se bebe una vez por día hasta sentir mejoría.

Recomendaciones. Tomar con alimentos, pues tiene un sabor muy amargo.

4. CONCLUSIONES

Las amas de casa de las comunidades de Vicente Guerrero y Potrero del Carnero en el municipio de Rayón, S.L.P. tienen conocimiento sobre el uso de plantas silvestres para tratar diversas enfermedades comunes como resfriado, dolor de estómago o diarrea, contusiones e incluso padecimientos crónicos como DM diabetes mellitus. El empleo de plantas medicinales es cotidiano, por ello, es necesario evaluar su efectividad para luego dar a conocer a la población la confianza de los remedios que utiliza y la información referente a la seguridad de su empleo.

Este trabajo aporta un procedimiento para estudiar y seleccionar especies vegetales que se emplean en las comunidades rurales para tratar padecimientos relacionados con procesos inflamatorios. En el presente trabajo se identificaron 13 especies, de las cuales el 46% se emplea para tratar más de una enfermedad. Con base en la información proporcionada por las informantes sobre las especies, sus usos medicinales y su posología tradicional, además de la consulta bibliográfica sobre la evaluación de diversos efectos farmacológicos de dichas especies, fue posible la selección de las dos especies más relevantes localmente y con menor información documental acerca de sus propiedades anti-inflamatorias; estas especies fueron *Hamelia patens* Jacq. y *Calea urticifolia* (Mill.) DC.

REFERENCIAS.

- Aguirre R., J. R. 1979. Metodología para el registro del conocimiento empírico de los campesinos en relación con el uso de recursos naturales renovables. Centro Regional para Estudios de Zonas Áridas y Semiáridas. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Alcorn, J.B. 1984. Huastec mayan ethnobotany. University of Texas. Austin, Texas, USA. 982p.
- Andrade – Cetto, A.; M. Heinrich. 2005. Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. J Ethnopharmacol. 99(3):325 – 348.
- Anónimo. Comunidades indígenas. 2008. Primer Informe de Gobierno. Desarrollo Humano y Oportunidad Social. Consultado en: <http://www.slp.gob.mx/Informe/archivos%20web/informe%20en%20pdf/comunidades%20indigenas.pdf> 18 de febrero del 2008.
- Arvigo, R.; A. Camporese; M.J. Balick; R.G. Esposito; N. Morsellino; F. De Simone; A. Tubaro. 2003. Screening of antibacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). J Ethnopharmacol. 87:103-107.
- Ávila H.; J. Rivero; F. Herrera; G. Fraile. 1997. Cytotoxicity of a low molecular weight fraction from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) gel. Toxicon. 35(9): 1423-1430.
- Bang J.S.; D. H. Oh; H. Mi Choi; B-J. Sur; S.-J. Lim; J. Y. Kim; H-I. Yang, M. C. Yoo; D.H. Hahm; K. S. Kim. 2009. Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1 β - stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models. Arthrit Res Ther. 11: R49.
- Bermúdez, A.; M.A. Oliveira Miranda; D. Velázquez., 2005. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia. Ago 30 (008): 453-459.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>

- Carbajal E. H. 2008. Importancia de las plantas en la cultura alimentaria *xi'oi*, Las Guapas, Rayón, S.L.P. Tesis de maestría. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. UASLP. San Luis Potosí, S.L.P., México. 136p.
- Carrillo – Rosario, T.; G. Moreno. 2006. Importancia de las plantas medicinales en el autocuidado de la salud en tres caseríos de Santa Ana Trujillo, Venezuela. *Revista de la Facultad de Farmacia*. 48 (2): 21 – 28.
- Castillo G., H.A.; J. Fortanelli M.; J. García P. 2009. Estudio etnobotánico de cuatro comunidades *xi'uiiky* del matorral submontano de La Palma, Tamasopo, San Luis Potosí, México. Sociedad Latinoamericana de Etnobiología, Asociación Etnobiológica Mexicana, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. VII Congreso Latinoamericano de Etnobiología, VII Congreso Mexicano de Etnobiología. 2 al 6 de noviembre de 2009. Mineral de Reforma, Hidalgo, México.
- Chemin Bässler, H. (1984). *Los pames septentrionales de San Luis Potosí*. Instituto Nacional Indigenista. Serie de investigaciones sociales. Colección Número 13. México. 249p.
- CONABIO, 2006. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/rubiaceae/hamelia-patens/fichas/ficha.htm> Junio, 2009.
- Domínguez R. C. A. 2007. Adiponectina: el tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. *Rev Endocrinol Nut*. 15(3):149 – 155.
- Estrada L., E. 1986. *Jardín botánico de plantas medicinales Maximino Martínez (1888 – 1964)*. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. México. 41p.
- Gamboa – Angulo, M. M.; J. Cristóbal – Alejo; I. L. Medina – Baizabal; F. Chi-Romero; R. Méndez-González; P. Simá-Polanco; F. May-Pat. 2008. Antifungal properties of selected plants from the Yucatán península, México. *World J Microbiol Biotechnol*. 24:1955-1959.
- García R., G. 1999. New distribution records of Compositae from Aguascalientes, México. *Acta Botánica Mexicana*. May. 46:1-17 Disponible en Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=57404601>. ISSN 0187-7151
- George, D.; S.S. Bhat; B. Antony. 2009. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of *aloe vera* tooth gel and two popular commercial toothpastes: an *in vitro* study. *Gen Dent*. may-jun; 57(3): 238-241.
- Gomez-Beloz, A.; J.C. Rucinski; M.J. Balick; C. Tipton. 2003. Double incision wound healing bioassay using *Hamelia patens* from El Salvador. *J Ethnopharmacol*. Jun; 88:169-173.
- Habeeb, F.; G. Stables; F. Bradbury; S. Nong; P. Cameron; R. Plevin; V.A. Ferro. 2007. The inner gel component of *Aloe vera* suppresses bacterial-induced pro-inflammatory cytokines from human immune cells. *Methods*. Aug; 42(4):388-393.

- Hernández T; M. Canales; J. Cabllero; A. Durán; R. Lira. 2005. Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. INCI. 30(9).
- Hutter, J.A.; M. Salman; W.B. Stavinoha; N. Satsangi; R.F. Williams; R.T. Streeper; S.T. Weintraub. 1996. Anti-inflammatory C-glycosyl chromone from *Aloe barbadensis*. J Nat Prod. May;59(5): 541-543.
- INEGI. (2005). *Conteo de población y vivienda 2005*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- Krakof, J.; T. Funahashi; C.D.A. Stehouwer; C.G. Schalkwijk; S. Tanaka; Y. Matsuzawa; S. Kobes; P.A. Tataranni; R.L. Hanson; W.C. Knowler; R.S. Lindsay. 2003. *Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian*. Diab Care. 26: 1745 – 1751.
- Llorach, C.; C. Chen; E. González; A. Hernández; Y. Rodríguez. 2007. Uso de plantas medicinales en adultos que acuden a una unidad de atención primaria de Panamá. Arch Med Fam. Gen. 4(1): 15-18.
- Lozano C. O. 2002. Adipocitoquinas. Rev Endocrinol Nut. 10(3): 147 – 150.
- Matsuura, N.; M. Yamada; H. Suzuki; N. Hasegawa; C. Kurosaka; M. Ubukata; T. Tanaka; M. Inuma. 2005. Inhibition of preadipocyte differentiation by germacranolides from *Calea urticifolia* in 3T3-L1 cells. Biosci Biotechnol Biochem. 69(12): 2470-2474.
- Mena-Rejón, G.; E. Caamal-Fuentes; Z. Cantillo-Ciau; R. Cedillo-Rivera. 2009. *In vitro* cytotoxic activity of nine plants used in mayan traditional medicine. J Ethnopharmacol. Nov; 121:462-465.
- Mendoza C., G.; R. Lugo P.; H. Tehuacatl C. (2002). *La farmacia viviente*. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Programa Universitario de Medicina Tradicional y Terapéutica Naturista. Diciembre, México. 289p.
- Nakagawa, Y.; M. Inuma; N. Matsuura; K. Yi; M. Naoi; T. Nakayama; Y. Nozawa; Y. Akao. 2005. A potent apoptosis – inducing activity of a sesquiterpene lactone, arucanolide, in HL60 cells: a crucial role of apoptosis – inducing factor. J Pharmacol Sci. 97: 242-252.
- Okyar, A.; A. Can; N. Akev; G. Baktir; N. Sütllüpinar. 2001. Effect of *Aloe vera* leaves on blood glucose levels in type I and Type II diabetic rat models. Phytother Res. Mar; 15(2):157-161.
- Pandey, R.; A. Mishra. 2009. Antibacterial activities of crude extract of *Aloe barbadensis* to clinically isolated bacterial pathogens. Appl Biochem Biotechnol. Mar 5; [Epub ahead of printing]

- Pérez G., S.; M.A. Zavala S.; R. Vargas S.; E. Hernández Z.; R.M. Pérez G. 1996. Antidiarrhoeal activity of *Hamelia patens* metanol extract in rats and mice. *Phytother Res.* Dec; 10(8): 686-688.
- Recasens, M.; W. Ricart; J.M. Fernández – Real. 2004. Obesidad e inflamación. *Revista Médica de la Universidad de Navarra*, 48(2): 49 – 54.
- Reyes-Chilpa, R.; J. Rivera; M. Oropeza; P. Mendoza; B. Amekraz; C. Jankowski; M. Campos. 2004. Methanol extracts of *Hamelia patens* containing oxindole alkaloids relax KCl-induced contraction in rat Myometrium. *Biol Pharm Bull.* Oct; 27(10):1617-1620.
- Ríos, M.Y.; A.B. Aguilar-Guadarrama. 2006. Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). *Rev Cubana Plant Med.* May; 11(1).
- Román-Ramos, R.; J.L. Flores-Sáenz; G. Partida-Hernández; A. Lara-Lemus; F. Alarcón-Aguilar. 1991. Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. *Arch Invest Med (Mex).* Jan-Mar; 22(1):87-93.
- Rzedowski, J.; Calderón de R., G. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª edición. Instituto de Ecología, A.C. México. 1406p.
- Sosa S.; M.J. Balick; R. Arvigo; R.G. Esposito; C. Pizza; G. Altinier; A. Tubaro. 2002. Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. *J Ethnopharmacol.* Jul; 81(2):211-214.
- SSA. (2005). Estadísticas de tasa de mortalidad por entidad federativa, y principales causas de mortalidad general a nivel nacional. México.
- Stevens, W. D.; C. Ulloa U.; A. Pool; O. M. Montiel (eds.). 2001. Flora de Nicaragua. Vol. 85, tomos I, II y III. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis Missouri.
- Tanaka, M.; E. Misawa; Y. Ito; N. Habara; K. Nomaguchi; M. Yamada; T. Toida; H. Hayasawa; M. Takase; M. Inagaki; R. Higuchi. 2006. Identification of five phytosterols from *Aloe vera* gel as anti-diabetic compounds. *Biol Pharm Bull.* Jul; 29(7):1418-1422.
- Téllez M., J. 2005. Adiponectina y disfunción endotelial. *Rev. Salud Pub. Nut.* Edición especial N° 16. Se puede consultar en: <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-16-2005/documentos/12.htm>
- Torres R., J.C. 2010. Análisis etnobotánico y arquitectónico de la vivienda rural de la región *x'iuy* de 'La Palma', San Luis Potosí. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P. México, 228p.
- Umemura, K.; T. Itoh; N. Hamada; Y. Fujita; Y. Akao; Y. Nozawa; N. Matsuura; M. Inuma; M. Ito. 2008. Preconditioning by sesquiterpene lactone enhances H₂O₂ – induced Nrf2/ARE activation. *Biochem Biophys Res Comm.* 368: 948-954.

- Van der Sande, M. B. A.; G.E.L. Walraven; P.J.M. Milligan; W.A.S. Banya; S.M. Ceesay; O.A. Nyan; K.P.W.J. McAdam. 2001. Antecedentes familiares: una oportunidad para intervenir precozmente y mejorar el control de la hipertensión, la obesidad y la diabetes. Bull. World Health Organization, 79(4): 321 – 328.
- Yao, H.; Y. Chen; S. Li; L. Huang; W. Chen; X. Lin. 2009. Promotion proliferation effect of a polysaccharide from *Aloe barbadensis* Miller on human fibroblasts *in vitro*. Int J Biolmacromol, Aug, 1; 45(2):152-156.

5.2. EXPERIMENTO 1

VALORACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq.

Guzmán Guzmán. P¹.; E. García-Chávez ²; G.A. Soto P.²; B.I. Juárez F².

¹Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. UASLP.

²Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. UASLP.

RESUMEN

Se realizó la evaluación experimental del efecto anti-inflamatorio de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq., especies vegetales ampliamente utilizadas para el tratamiento de padecimientos relacionados con procesos inflamatorios en la región *xi'iuuy* de La Palma, municipio de Rayón, San Luis Potosí. Los objetivos de este trabajo fueron: a) corroborar los efectos terapéuticos de los medicamentos tradicionales a través de un modelo *in vivo*, y b) evaluar la capacidad de las especies sobre la inhibición de la secreción de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β e IL-6). Se evaluó el extracto etanólico de ambas especies en dosis de 3.96 mg/kg y 7.92 mg/kg para *C. urticifolia*, y 36.27 mg/kg y 72.54 mg/kg para *H. patens*. Se empleó carragenina al 1% como agente inductor del edema en la aponeurosis plantar derecha (APD) de ratas macho de la cepa Wistar, y se empleó una dosis de 0.1 mg/kg de Meloxicam como fármaco prototipo para comparar el efecto de los extractos. Se midió el volumen de inflamación en intervalos de 0.5 h a 5.5 h con un pletismómetro digital LE 7500, y se determinó la concentración de citocinas proinflamatorias (CP) al final del experimento, a través del método ELISA. Ambos extractos mostraron un efecto sobre la inhibición de la inflamación *in vivo* y sobre la secreción de CP. En relación con el efecto de *C. urticifolia*, la dosis de 7.92 mg/kg mostró un mayor efecto anti-inflamatorio, el cual fue consistente sobre la inhibición de la secreción de CP. En el caso del efecto del extracto de *Hamelia patens* la dosis de 72.54 mg/Kg tuvo un mejor efecto inhibitorio sobre la secreción de CP. El efecto anti-inflamatorio de los extractos etanólicos de ambas especies, mostró ser comparable con el del Meloxicam, lo que señala la posibilidad de que el mecanismo de acción sea a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2).

1. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos ancestrales se ha registrado el uso de especies vegetales para tratar diversos padecimientos relacionados con la salud humana, sobre todo por los grupos indígenas de cada país. México cuenta con una amplia gama de grupos indígenas, distribuidos a lo largo del territorio. En particular en el estado de San Luis Potosí, se distribuyen tres grupos indígenas *tének*, *náhuatl* y *xi'iuuy*. Esta última etnia se caracteriza por un amplio uso de plantas medicinales para tratar distintas enfermedades (Chemin, 1984; INEGI, 2005). Un estudio etnobotánico reciente, mostró que este grupo étnico aún emplea plantas medicinales, donde destacan *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq. para el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios (Guzmán *et al.*, 2010).

Calea urticifolia pertenece a la familia Asteraceae. Esta planta es conocida con los nombres de “negrito”, “negro” o “hierba del negro”, y es utilizada principalmente para tratar la diabetes mellitus, gastritis y problemas digestivos como dolor de estómago, vómito y diarrea (Guzmán *et al.*, 2010). Con respecto a su valoración experimental, presenta efectos antifúngico, nematocida y bactericida (Matsuura *et al.*, 2006; Gamboa-Angulo *et al.*, 2008), citotóxico (Nakagawa *et al.*, 2005; Ohguchi *et al.*, 2009), antioxidante (Umemura *et al.*, 2008) y para el tratamiento de úlceras gástricas (Matsuura *et al.*, 2006).

Hamelia patens pertenece a la familia Rubiaceae. Esta especie es conocida con el nombre de “madura plátano”, y ha sido ampliamente utilizada dentro de la medicina tradicional para tratar la diabetes mellitus tipo II, disentería, úlceras gástricas, dolor de estómago y muelas (Biblioteca Digital de Medicina Tradicional Mexicana); también ha sido empleada como cicatrizante y anti-inflamatorio de vientre y contusiones (Guzmán *et al.*, 2010). Se han reportado distintas propiedades farmacológicas de *Hamelia patens*, entre las que destacan su actividad citotóxica (Mena-Rejón *et al.*, 2008), antibacterial (Arvigo *et al.*, 2003; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006), cicatrizante (Gomez-Beloz *et al.*, 2003), antiespasmódica (Reyes-Chilpa *et al.*, 2004), antidiarréica (Pérez *et al.*, 1996), anti-inflamatoria (Sosa *et al.*, 2002; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006), analgésica (Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006; Reyes-Chilpa *et al.*, 2004) y para tratar problemas ginecológicos como cólicos menstruales y amenorrea (Reyes-Chilpa *et al.*, 2004).

De acuerdo con el estudio de Guzmán *et al.* (2010), ambas especies se emplean en el tratamiento de la diabetes mellitus, enfermedad crónica degenerativa; sólo de la especie *H. patens* se tiene registrado su uso para el tratamiento de procesos inflamatorios.

La inflamación es una respuesta del organismo ante la infección, irritación u otra lesión; la característica fundamental de este proceso es la presencia de enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor (Flach, 1992; Kenneth y Jamali, 2005).

La respuesta inflamatoria se inicia a través del reconocimiento del antígeno por el sistema inmune; tal interacción genera la activación de células inmunes conocidas como células mononucleares, las cuales incluyen a los neutrófilos, las células NK (natural killers) y los macrófagos; estos últimos son el grupo celular de mayor importancia en el proceso, debido a que tienen una gran capacidad fagocítica y son fuente de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 1 beta (IL-1 β) y la interleucina 6 (IL-6), al momento de su activación por el antígeno (Gosling, 1998; Bellingan, 1999; Kenneth y Jamali, 2005).

Las citocinas proinflamatorias (CP) son péptidos con funciones regulatorias, activadoras de células endoteliales y leucocitos, entre otras (Tilg *et al.*, 2006). El TNF- α es la primera CP en liberarse tras el reto impuesto por el antígeno, el cual junto con IL-1 β estimulan la liberación de IL-6. Tales citocinas además de presentar un papel primordial en la respuesta inmune, pueden ser secretadas como respuesta inflamatoria del tejido adiposo; estudios recientes han demostrado la relación de estas citocinas con la inducción de la resistencia a

la insulina que puede preceder a la generación de diabetes mellitus (Lozano, 2002; Krakof *et al.*, 2003; Recasens *et al.*, 2004; Téllez, 2005; Domínguez *et al.*, 2007).

De acuerdo con los antecedentes, se considera relevante valorar a través de un modelo *in vivo* el efecto anti-inflamatorio de *Calea urticifolia* y *Hamelia patens*, debido a la importancia que su uso representa para la comunidad *xi'uiy*. La finalidad es, por una parte corroborar sus efectos terapéuticos de acuerdo con la herbolaria tradicional y, por otra parte, evaluar su capacidad sobre la inhibición de la secreción de CP, por su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y de la diabetes mellitus.

2. METODOLOGÍA

2.1 Recolección del material vegetal

Calea urticifolia, se recolectó el 25 de marzo de 2009 en los alrededores de la comunidad Potrero del Carnero en el municipio de Rayón, S.L.P., en el punto ubicado en 21°52'29.8" N y 099°27'08.4"W, a 903 msnm, y dentro de la comunidad, situado en 21°52'27.6"N y 099°27'00.6"W, a una altitud aproximada de 901 m.

Hamelia patens, se recolectó el 25 de marzo de 2009 dentro de la comunidad Potrero del Carnero, Rayón, S.L.P., en solares de la comunidad ubicados en 21°52'21.8"N, 099°27'09.8"W y a 900 msnm.

2.2 Preparación del material vegetal

Una vez obtenido el material vegetal se colocaron los ejemplares en papel adsorbente por un período de 48 h, con la finalidad de separar las partes aéreas de la planta; posteriormente se secaron las hojas por un periodo de 15 días al abrigo de la luz a una temperatura de 22°C.

Las hojas de ambas especies se pulverizaron de manera independiente (100 g de hojas secas), en un molino eléctrico (Osterizer Pulsematic) y se sometieron a una extracción por maceración con etanol absoluto en relación 1:4 p/v. La mezcla se dejó macerar por un período de 10 días, con agitación periódica. Posteriormente, la mezcla se filtró en cápsulas de porcelana a peso constante, y se eliminó el solvente a temperatura ambiente. El concentrado del extracto se guardó en tubos estériles a 4°C hasta su uso. El rendimiento de extracto etanólico fue de 1.95 g para *Calea urticifolia*, y de 5.20 g para *Hamelia patens*, suficiente para todas las determinaciones.

2.3 Animales experimentales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar adultas, de 150 a 190 g de peso corporal, las cuales se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UASLP. Los animales fueron tratados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Se sometieron a un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h y se alimentaron con una dieta estándar

de laboratorio Lab Diet 5001 y agua *ad libitum*. Las ratas fueron sujetas a un período de adaptación de 2 semanas, y con un peso corporal de 200-250g antes de la administración de los tratamientos. Se utilizaron 4 ratas por tratamiento.

2.4 Agente inductor del edema

Para la inducción de la inflamación experimental se utilizó carragenina lambda IV (Fluka), la cual es un mucopolisacárido sulfatado de alto peso molecular extraído de las algas marinas *Chondrus* spp. y *Gigartina* spp. (Hansra *et al.*, 2000). Su mecanismo de acción se basa en la activación de los macrófagos a través de la interacción del mucopolisacárido con el receptor transmembranal TLR4 (toll-like receptor 4), lo que inicia la activación de vías intracelulares (MAPK, NFκB) que dan lugar a la síntesis de mediadores inflamatorios (citocinas pro-inflamatorias, entre otros) capaces de inducir la inflamación en un periodo de tiempo de 1-6 horas posterior a la administración de carragenina (Nantel *et al.*, 1999; Tsuji *et al.*, 2003, Arredondo, 2008).

2.5 Tratamientos

Los tratamientos empleados en esta evaluación fueron los siguientes:

1. Las dosis de los tratamientos de los extractos vegetales, se eligieron de acuerdo con las prácticas tradicionales *xi'iyu* correspondientes a una dosis de 0.044 mg/kg/día y 0.403 mg/kg/día de *Calea urticifolia* y *Hamelia patens* respectivamente; se consideró un tiempo necesario para la efectividad del tratamiento de 90 días (Guzmán *et al.*, 2010). Se administraron los tratamientos de manera independiente, uno correspondiente a la dosis tradicional y el otro al doble de la misma, equivalentes a 90 días de tratamiento. Las dosis vegetales usadas fueron: *Calea urticifolia*: 3.96 mg/Kg y 7.92 mg/kg de peso, y *Hamelia patens*: 36.27 mg/kg y 72.54 mg/kg de peso.

2. Meloxicam, como fármaco anti-inflamatorio prototipo, en dosis de 0.1 mg/Kg de peso, la dosis empleada en roedores como modelos experimentales (Arredondo, 2008). El mecanismo de acción del Meloxicam es inhibir la síntesis de prostaglandinas a través de la inhibición de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), enzima mediadora del proceso inflamatorio en el sitio de lesión (Barozzi y Tett, 2008).

3. Solución salina al 0.9%, como grupo control.

Para favorecer la absorción y el efecto terapéutico de los productos usados, todos los tratamientos fueron administrados por vía intraperitoneal de manera independiente 1 h antes de la inducción de la inflamación con carragenina 1% en la aponeurosis plantar derecha (APD).

2.6 Evaluación *in vivo* del efecto anti-inflamatorio.

Para determinar el volumen de la inflamación se empleó un pletismómetro digital marca LE 7500, facilitado por el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP. El equipo se fundamenta en el volumen de líquido desplazado por un cuerpo

irregular, mediante un par de electrodos de platino que detectan la conductancia eléctrica de una solución de NaCl al 0.01%, dentro de la cual se introduce la extremidad del animal; la señal eléctrica generada es transformada en unidades de volumen, y la diferencia de volumen entre la extremidad en condiciones normales y en condiciones de inflamación proporciona el volumen del edema (Arredondo, 2008).

Se midió el volumen de la APD de cada uno de los animales en condiciones normales. Posteriormente, se administraron, vía intraperitoneal, los tratamientos correspondientes a cada grupo de animales. Una hora después de aplicar los tratamientos, se indujo el edema con carragenina al 1%, y se aplicó solución salina al 0.9% al grupo control. Se determinó la variación de volumen de la extremidad con el pletismómetro a las 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 y 5.0 h después de haber inducido el edema, con cinco repeticiones por cada medición. Los datos obtenidos se ajustaron a través de la diferencia existente entre el volumen de la extremidad de las ratas tratadas con carragenina y las ratas tratadas únicamente con solución salina.

2.7 Evaluación de las especies vegetales sobre la inhibición de la secreción de citocinas proinflamatorias.

Se sacrificaron las ratas al final del experimento y se obtuvo la sangre de cada una mediante punción cardíaca. Esta se centrifugó de inmediato a 3000 rpm durante 15 min para obtener el plasma. Después se almacenó a -20°C, hasta su posterior análisis.

Para determinar las concentraciones de TNF- α , IL - 1 β e IL - 6 se utilizó el método de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), de acuerdo con las especificaciones de cada kit comercial (Peprotech Inc.). Las muestras fueron descongeladas a 4°C y se colocaron 100 μ l del anticuerpo primario de captura, disuelto en solución PBS 1x, en cada pozo de la placa (se realizaron tres repeticiones de cada muestra); se cubrió la placa y se incubó toda la noche a 4°C. Pasado el tiempo de incubación, se lavó la placa con PBS/Tween y se agregaron 200 μ l de solución bloqueadora a cada pozo, se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente por 1 h. Después del tiempo de incubación, se lavó nuevamente la placa con PBS/Tween y se agregaron 50 μ l de muestra problema o de estándar, según el pozo correspondiente, se cubrió la placa y se incubó a 4°C toda la noche. Pasado este tiempo de incubación, se lavó la placa en PBS/Tween, se agregaron 100 μ l del anticuerpo secundario, diluido en solución bloqueadora, a cada pozo, se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente por 1 h. Después del tiempo de incubación, se lavó la placa con PBS/Tween, se agregaron 100 μ l de avidina-peroxidasa a cada pozo, se cubrió la placa y se incubó en oscuridad por 30 min. Se lavó inmediatamente después la placa con PBS/Tween y se adicionaron 100 μ l de ABTS/H₂O₂ por pozo. Se determinó la lectura de la placa a través del lector de microplacas para ELISA (Multiskan Ascent), en una longitud de onda de 405 nm.

2.8 Análisis de resultados.

Para el análisis de los resultados se utilizó el software Stata 8.0 (Stata, Corp Collage Station Tx), en el CINVESTAV-Zacatenco. Se empleó un modelo estadístico

completamente al azar; para los datos obtenidos al final del experimento, se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, usando como prueba *post hoc* Bonferroni; para los datos que se tomaron a lo largo del experimento, se empleó un ANOVA de dos vías con mediciones repetidas usando *post-hoc* la prueba de Bonferroni. Se consideró como valor de significancia $p < 0.05$.

3. RESULTADOS

3.1 Evaluación *in vivo* del efecto anti-inflamatorio.

Se presentó inflamación de manera significativa a partir de 1.0 h posterior al inicio del experimento (1.040 ± 0.05 ml; $p < 0.05$) Tal efecto inflamatorio fue incrementando paulatinamente hasta un volumen máximo de 1.37 ± 0.07 ml a 1.433 ± 0.03 ml, el cual se observó a partir de las 4.5 h (Figura 1). El volumen basal promedio de la APD previo a la administración de carragenina fue de 0.85 ml.

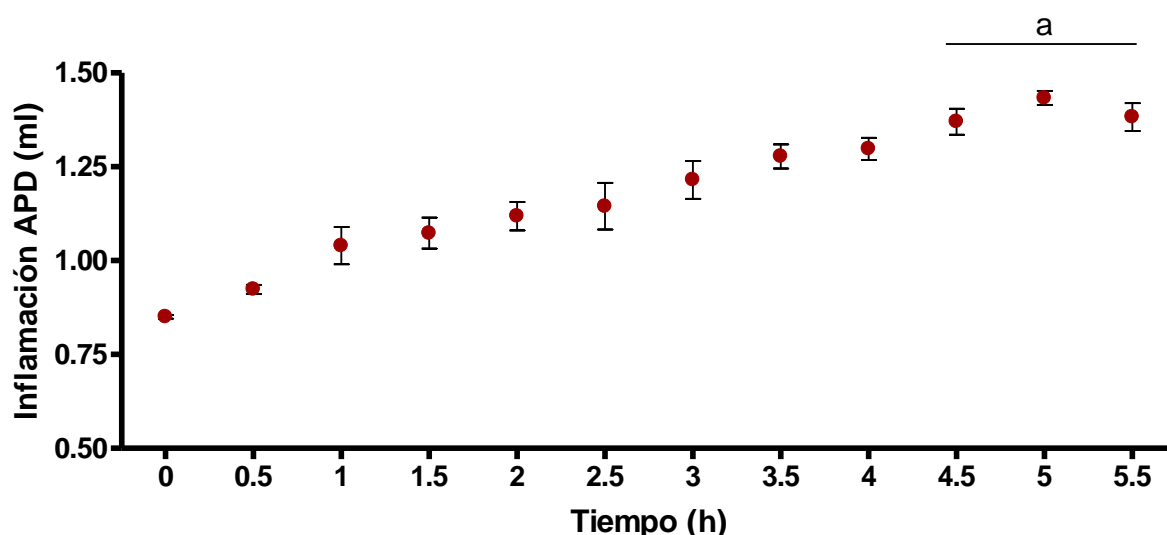


Figura 1. Relación tiempo-reacción. $n = 4$. Los valores representan la media \pm EE; $a = p < 0.05$ con respecto al volumen basal de la APD (0.85 ml).

La Figura 2 presenta el efecto inhibitorio de la inflamación del extracto de *Calea urticifolia* en ambas dosis (3.69 y 7.92 mg/kg). El extracto vegetal con dosis de 3.69 mg/kg, tuvo efecto anti-inflamatorio significativo a partir de las 3.5 h hasta el término del experimento. La dosis de 7.92 mg/kg de *C. urticifolia*, presentó efecto inhibitorio de la inflamación a partir de las 3.0 h y hasta el término del tratamiento; sin embargo, a diferencia de la dosis tradicional, en este tratamiento se observó un comportamiento más estable en el control del volumen de la inflamación durante todo el experimento (Figura 2).

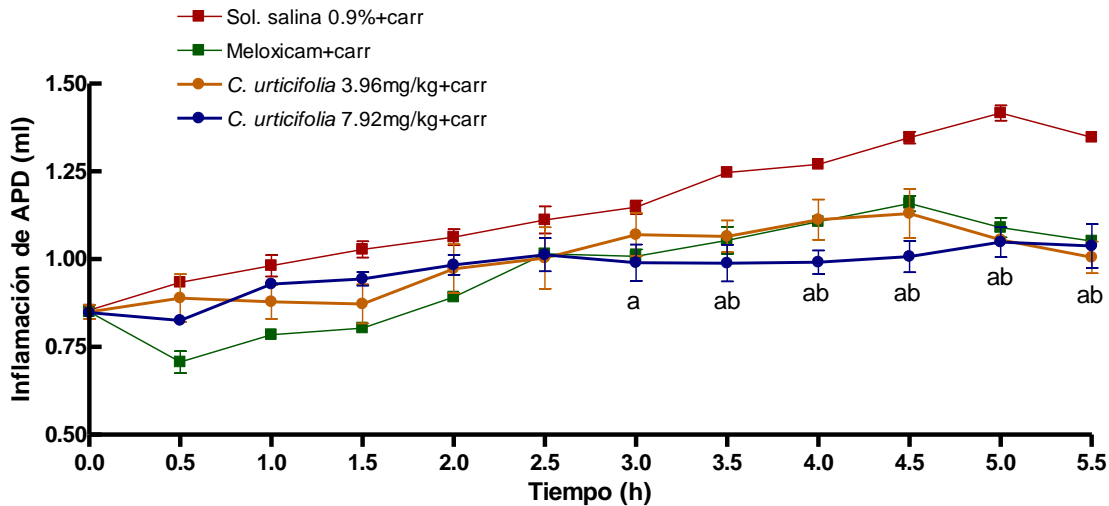


Figura 2. Respuesta tiempo-reacción del extracto etanólico de *Calea urticifolia*. Los valores representan la media \pm EE. $n = 4$ por tratamiento, $a = p < 0.05$ *C. urticifolia* 7.92 mg/kg + carr vs Sol. Salina 0.9% + carr; $b = p < 0.05$ *C. urticifolia* 3.96 mg/kg + carr vs Sol. Salina 0.9% + carr; carr = carragenina.

La Figura 3 presenta la comparación de la intensidad del efecto anti-inflamatorio entre los tratamientos del extracto vegetal de *C. urticifolia* en ambas dosis y Meloxicam 0.1 mg/kg, a partir de las 3.5 h hasta el término del experimento.

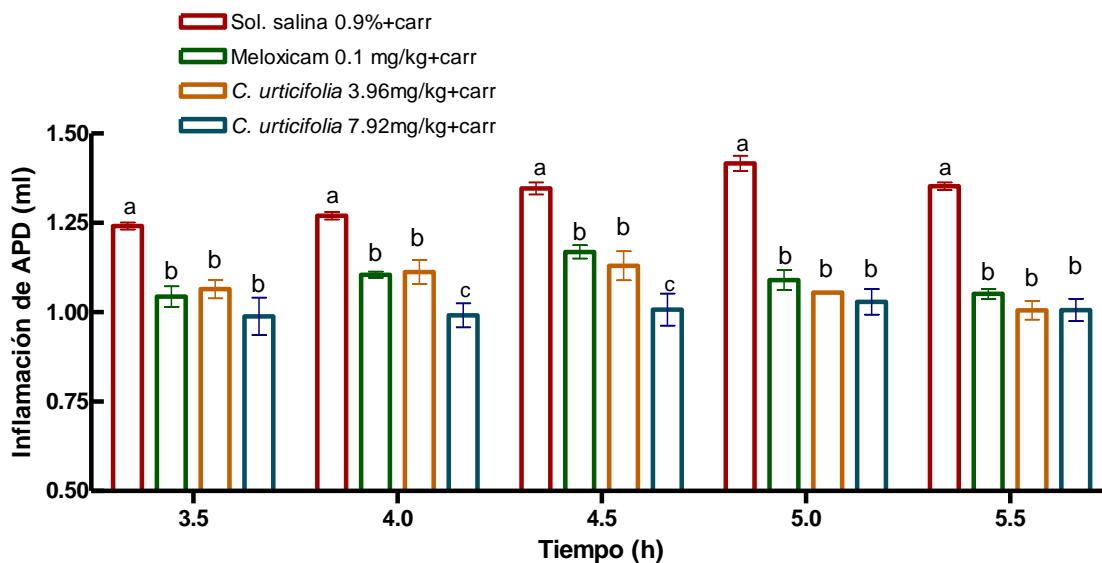


Figura 3. Efecto inhibitorio de los tratamientos en el intervalo de tiempo de mayor inflamación. $n = 4$. Los valores representan la media \pm EE. carr= carragenina.

La dosis de *C. urticifolia* de 7.92 mg/kg, tuvo un efecto inhibitorio de la inflamación significativamente mayor a la dosis de 3.96 mg/kg y Meloxicam 0.1 mg/kg, en el intervalo de 4.0 a 4.5 h; la dosis de 3.96 mg/kg no mostró diferencias significativas en comparación con el fármaco prototipo ($p > 0.05$) (Figura 3).

De acuerdo con la evaluación del efecto anti-inflamatorio del extracto etanólico de *H. patens*, la dosis de 36.27 mg/kg inhibió la inflamación a partir de 0.5 h hasta el término del experimento ($p < 0.05$). Por otra parte, la dosis de 72.54 mg/kg mostró tener un efecto inhibitorio significativo sólo a partir de las 3.5 h en comparación con el grupo de animales tratados con solución salina 0.9% (Figura 4).

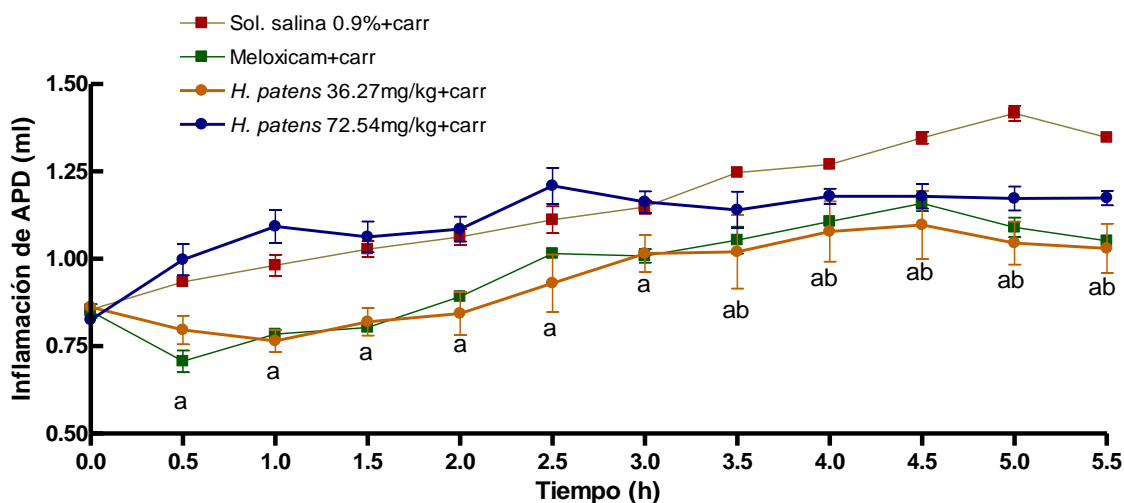


Figura 4. Relación tiempo-reacción del extracto etanólico de *Hamelia patens*. Los valores representan la media \pm EE. $n = 4$ por tratamiento, $a = p < 0.05$ *H. patens* 36.27 mg/kg + carr vs Sol. Salina 0.9% + carr; $b = p < 0.05$ *H. patens* 72.54 mg/kg + carr vs Sol. Salina 0.9% + carr. carr = carragenina.

En la Figura 5 se compara la intensidad del efecto anti-inflamatorio entre los tratamientos del extracto de *H. patens* y el Meloxicam 0.1 mg/kg en el periodo de mayor inflamación (3.5 h a 5.5 h). El efecto anti-inflamatorio del extracto de *H. patens* en dosis de 36.27 mg/kg no mostró diferencia significativa respecto a Meloxicam 0.1 mg/kg durante el intervalo de máxima inflamación. El efecto anti-inflamatorio de la dosis de 72.54 mg/kg, fue significativamente menor al efecto del Meloxicam 0.1 mg/kg a las 4.0 y a las 5.5 horas (Figura 5).

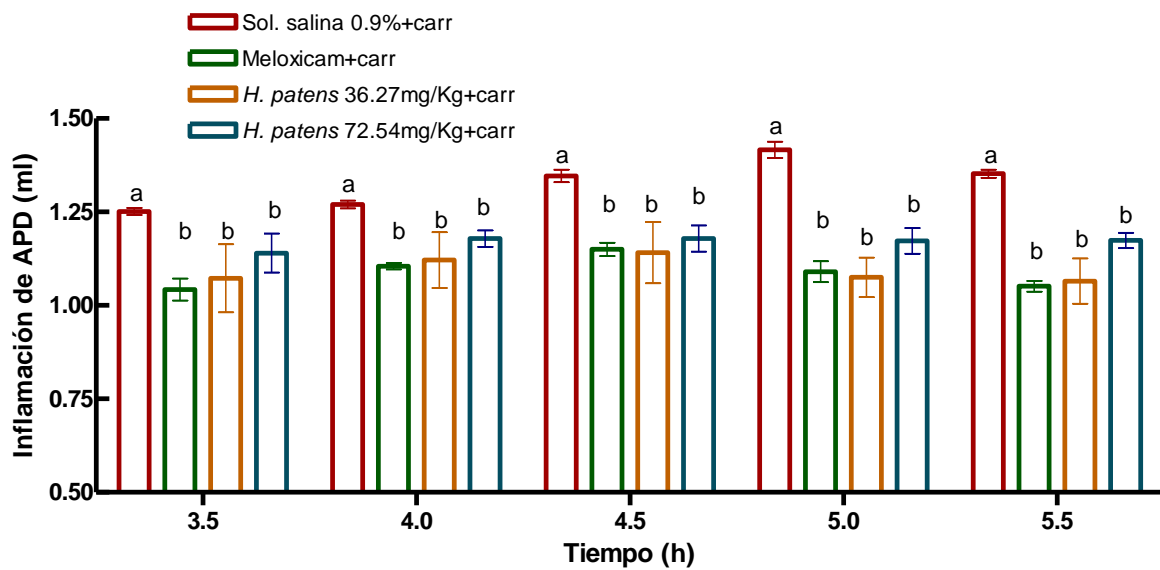


Figura 5. Efecto inhibitorio de los tratamientos en el intervalo de tiempo de mayor inflamación. n = 4. Los valores representan la media \pm EE; carr= carragenina.

3.2 Evaluación de las especies vegetales sobre la inhibición de la secreción de citocinas proinflamatorias.

Los grupos de ratas tratadas con los extractos etanólicos de *C. urticifolia* y *H. patens* mostraron una inhibición significativa de la secreción de TNF- α en ambas dosis respecto al grupo de ratas tratado con solución salina al 0.9% ($p < 0.01$). Sin embargo, *C. urticifolia* en dosis de 7.92 mg/kg tuvo un efecto inhibitorio mayor (47.9%) que el inducido con la dosis de 3.96 mg/kg. Por otra parte, en comparación con el efecto inhibitorio de TNF- α del extracto de *H. patens*, la dosis de 72.54 mg/kg presentó una mayor inhibición de esta citocina (32.4%) con respecto al efecto de la dosis tradicional. La inhibición del extracto de *C. urticifolia* no fue significativamente diferente al del grupo de ratas tratadas con Meloxicam 0.1 mg/kg (Figura 6). El tratamiento con *H. patens*, en ambas dosis, no se presentó diferencias significativas en la respuesta inhibitoria de la secreción de TNF- α (Figura 6).

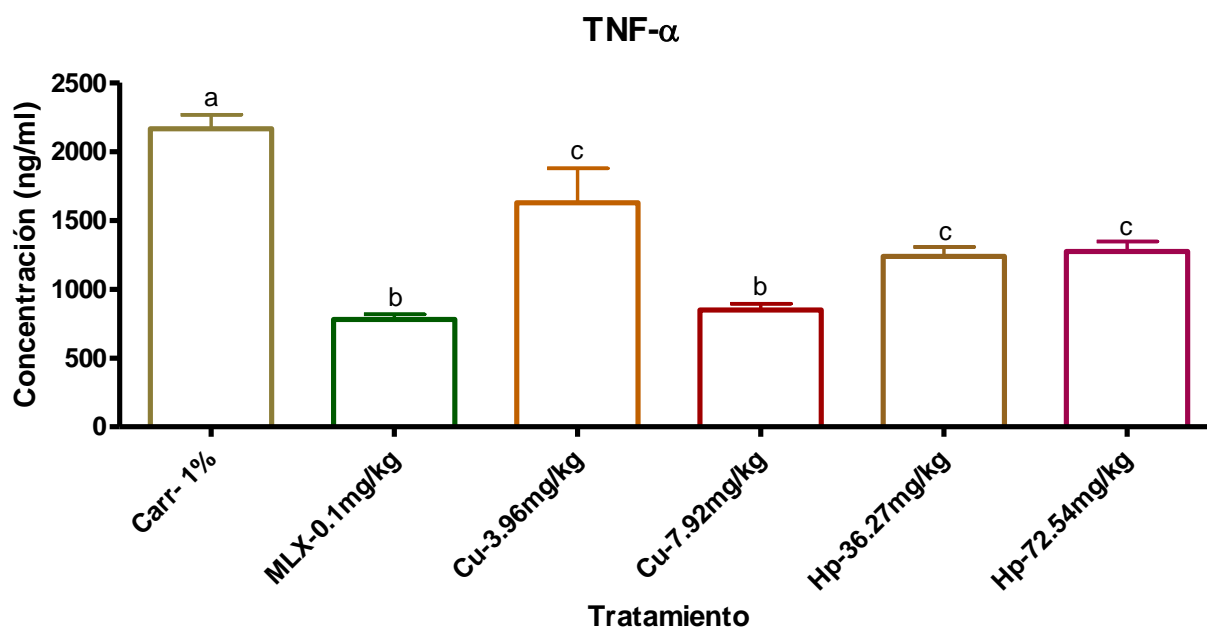


Figura 6. Efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* y de *Hamelia patens* sobre la secreción de TNF- α . Los valores representan la media \pm EE; n=4 por tratamiento. Carr= carragenina; MLX= Meloxicam; Cu= *Calea urticifolia*; Hp= *Hamelia patens*.

La Figura 7 presenta el efecto inhibitorio de las especies vegetales sobre la secreción de IL-1 β . Los resultados mostraron que ambas especies vegetales en sus distintas dosis son capaces de inhibir la secreción de esta citocina de manera significativa respecto al grupo control.

Sólo la especie *C. urticifolia* en dosis de 7.92 mg/kg, presentó un efecto mayor inhibitorio de IL-1 β . Dicho efecto presentó una disminución adicional del 28.5% con respecto a la dosis tradicional de *C. urticifolia* y a las dosis de *H. patens* además. Tuvo una mayor eficacia sobre la inhibición de la citocina (24.2%) respecto al grupo tratado con Meloxicam 0.1 mg/kg ($p < 0.001$). *H. patens* no mostró diferencias significativas en su capacidad inhibitoria en ambas dosis (Figura 7).

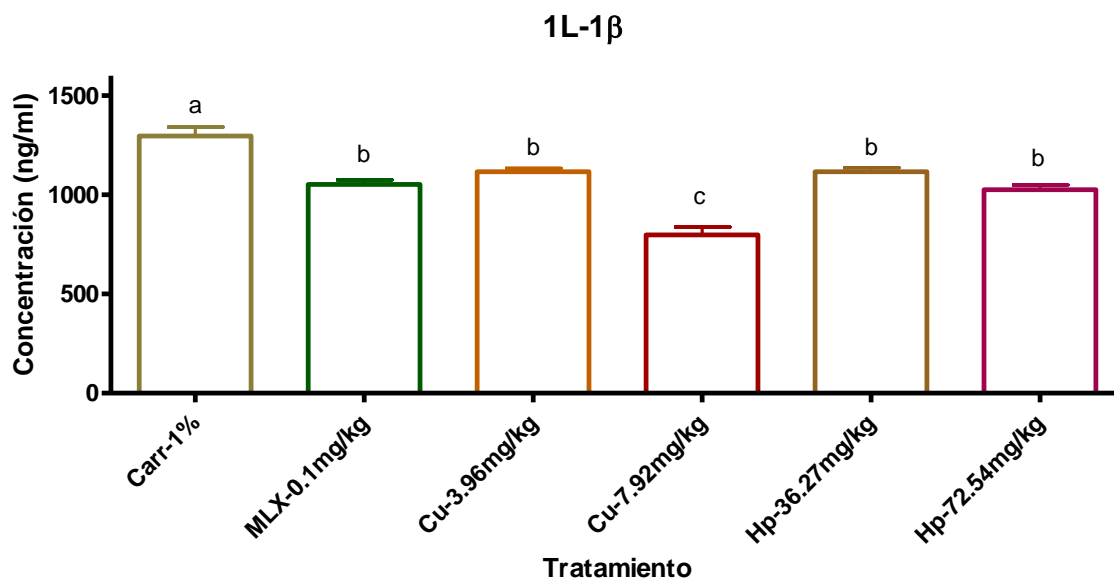


Figura 7. Efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* y de *Hamelia patens* sobre la secreción de IL-1 β . Los valores representan la media \pm EE; n=4 por tratamiento; Carr= carragenina; MLX= Meloxicam; Cu= *Calea urticifolia*; Hp= *Hamelia patens*.

Los resultados obtenidos evidencian la capacidad inhibitoria de los tratamientos con el extracto etanólico de *C. urticifolia* y *H. patens*, sobre la secreción de IL-6, ya que todos los tratamientos mostraron una disminución significativa de la citocina (Figura 8). *C. urticifolia* en dosis de 3.96 mg/kg fue la especie con menor capacidad inhibitoria de esta citocina, en comparación con todos los tratamientos. Por otra parte, el grupo de animales tratados con el extracto de *C. urticifolia* en dosis de 7.92 mg/kg, tuvo un decremento significativo en la secreción de la citocina IL-6 del 26.7% respecto al de la dosis de 3.96 mg/kg. Sin embargo este efecto no fue comparable al del grupo de ratas tratado con Meloxicam 0.1 mg/kg (Figura 8). *H. patens* en dosis de 72.54 mg/kg, tuvo una disminución de la secreción de IL-6 del 37.1 %, respecto del tratamiento con 36.27 mg/kg, y de 17.5% respecto del tratamiento de *Calea urticifolia* en una dosis de 7.92 mg/kg. Tal efecto fue comparable con el efecto inhibitorio del grupo de ratas tratado con Meloxicam 0.1 mg/kg (Figura 8).

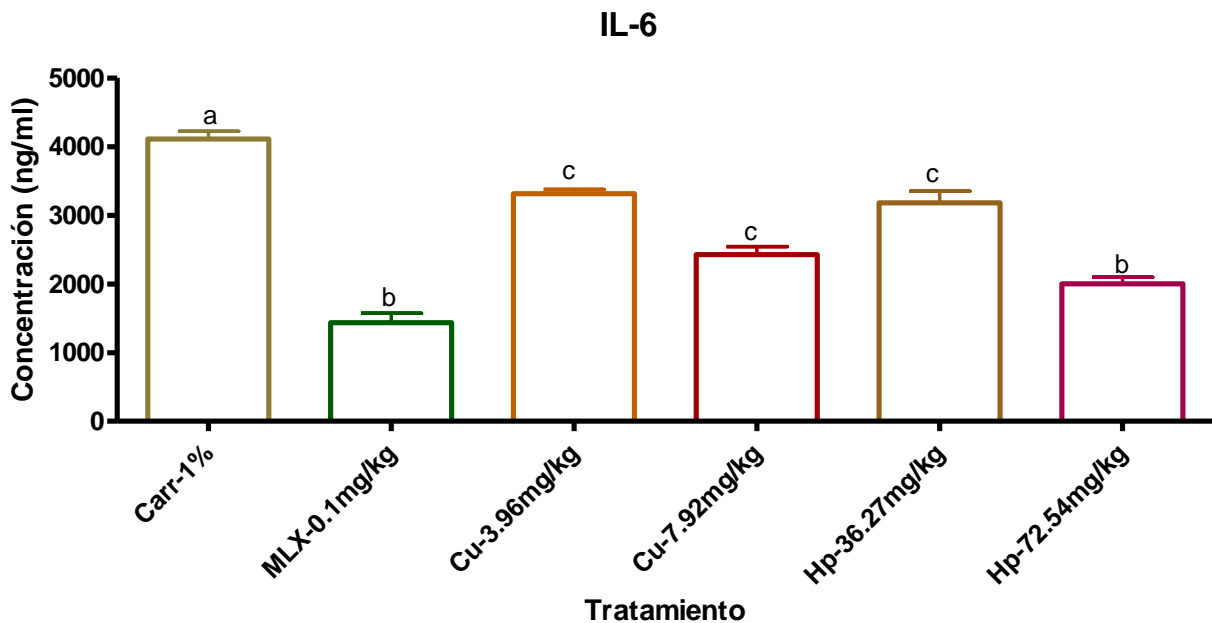


Figura 8. Efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* y de *Hamelia patens* sobre la secreción de IL-6. Los valores representan la media \pm EE; n=4 por tratamiento. Carr= carragenina; MLX= Meloxicam; Cu= *Calea urticifolia*; Hp= *Hamelia patens*.

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto anti-inflamatorio *in vivo* y la capacidad inhibitoria sobre la secreción de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) de los extractos etanólicos de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y de *Hamelia patens* Jacq.

De acuerdo con la evaluación del efecto anti-inflamatorio *in vivo*, ambos extractos vegetales inhibieron el proceso inflamatorio. Ambas dosis de *Hamelia patens* y la dosis tradicional (3.96 mg/kg) de *Calea urticifolia* presentaron un comportamiento equivalente al del grupo de animales tratados con Meloxicam 0.1 mg/kg, pero la dosis de 7.92 mg/kg del extracto etanólico de *Calea urticifolia* presentó un efecto inhibitorio significativo durante el periodo de inflamación máxima del experimento (3.5 a 5.5 h). Este incluso fue mayor, que el observado en el grupo de animales tratados con Meloxicam 0.1 mg/kg. Este tratamiento tuvo un comportamiento estable a lo largo del experimento, lo que sugiere la existencia de un efecto modulador del proceso inflamatorio. Este efecto fue corroborado con la evaluación de la inhibición de las citocinas proinflamatorias, donde tuvo un mayor efecto inhibitorio sobre la secreción TNF- α e IL-1 β .

De acuerdo con la evidencia documental, no hay registro de la evaluación del efecto anti-inflamatorio de *C. urticifolia*; sin embargo, existen trabajos que han demostrado su capacidad antioxidante (Umemura *et al.*, 2008); tal efecto está estrechamente relacionada con la regulación de la activación de la vía Nrf2/ARE, la cual está relacionada con la activación y modulación de la respuesta inflamatoria (García *et al.*, 2002; Umemura *et al.*,

2008). Es posible que la inhibición de las citocinas esté relacionada, en parte, con la modulación de las vías previamente mencionadas.

Hay evidencia de que las especies medicinales de una misma familia, comparten sus efectos terapéuticos. Diversos estudios han documentado la actividad anti-inflamatoria de plantas de la familia Asteraceae en modelos *in vivo* (Abad *et al.*, 1993; Máñez *et al.*, 1999; Cioffi *et al.*, 2004; Ukiya *et al.*, 2006; Lalone *et al.*, 2007; Ukiya *et al.*, 2007; Giangaspero *et al.*, 2009). Esta actividad es atribuida a metabolitos secundarios como glicósidos (Máñez *et al.*, 1999; Cioffi *et al.*, 2004; Ukiya *et al.*, 2006; Ukiya *et al.*, 2007), terpenos (Calixto *et al.*, 2004; Ukiya *et al.*, 2006; Ukiya *et al.*, 2007), lactonas sesquiterpénicas (Máñez *et al.*, 1999) y flavonoides (Abad *et al.*, 1993; Calixto *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2004; Giangaspero *et al.*, 2009), entre otros.

Calea urticifolia sólo tiene registrada la presencia de lactonas sesquiterpénicas, (Matsuura *et al.*, 2005; Nakagawa *et al.*, 2005; Umemura *et al.*, 2008; Ohguchi *et al.*, 2009). A estos compuestos se atribuye su capacidad antioxidante en el organismo a través de la activación de la vía Nrf2/ARE, con fosforilación de quinasas como la ERK y JNK, que responden a estímulos extracelulares como las citocinas proinflamatorias, y que regulan actividades como la activación de genes, mitosis, diferenciación de células T y apoptosis (Abbas *et al.*, 2003; Umemura *et al.*, 2008). También se ha documentado la capacidad de estas lactonas para inhibir al factor de transcripción NFκB (Matsuura *et al.*, 2005), factor responsable de la regulación de genes celulares involucrados en la respuesta inflamatoria temprana y la secreción de TNF-α (Lee *et al.*, 2006a).

Para el extracto de *Hamelia patens*, ambas dosis presentaron igual efecto inhibitorio sobre la secreción de las citocinas TNF-α e IL-1β; la dosis de 72.54 mg/kg de *H. patens* presentó un mayor efecto inhibitorio en la secreción de IL-6 con respecto a la dosis tradicional de dicho extracto (36.27 mg/kg), siendo equiparable al efecto observado en el grupo de ratas tratado con Meloxicam 0.1 mg/kg.

Existen antecedentes de la actividad anti-inflamatoria de *H. patens* en modelos de inflamación *in vivo* a través de su administración tópica (Sosa *et al.*, 2002); cabe señalar que nuestro estudio evaluó el efecto anti-inflamatorio del extracto a través de una vía intraperitoneal, considerando los procesos de biotransformación del extracto, para conservar la efectividad del mismo. Por otra parte, no se tiene registro del mecanismo por el cual *H. patens* inhibe la inflamación. Este trabajo demostró que el extracto etanólico de *H. patens* ejerce su efecto anti-inflamatorio a través de la inhibición de la secreción de TNF-α, IL-1β e IL-6, especialmente la última.

En relación con estudios de plantas que dentro de la misma familia de *H. patens* (Rubiaceae), *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC., presenta su actividad anti-inflamatoria por la presencia de metabolitos secundarios como triterpenos y glicósidos principalmente (Aquino *et al.*, 1991).

Para *H. patens* se ha documentado de igual forma la presencia de triterpenos, así como de saponinas esteroidicas (estigmasterol, sitosterol), alcaloides indólicos, poliprenoles,

cicloartenoles, flavonoides, alcaloides oxindólicos, y flavonas (Soto-Sobenis *et al.*, 2001; Reyes-Chilpa *et al.*, 2004; Ríos & Aguilar-Guadarrama, 2006). De acuerdo con Kim *et al.* (2004), compuestos como los flavonoides y las flavonas pueden inhibir el proceso inflamatorio a través de diversos mecanismos celulares como: a) inhibir la secreción de fosfolipasa A₂ (PLA₂), para evitar la formación de ácido araquidónico; b) inhibir las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2 (COX-1/COX-2) y lipooxigenasa (LOX) y evitar la formación de eicosanoides proinflamatorios; c) regular la secreción de COX-2, Oxido nítrico sintetasa (iNos), TNF- α , IL-1 β e IL-6; d) inhibir la expresión de PKC y AMPK (ERK, p38 AMPK, JNK), evitando la expresión de factores de transducción como el NF- κ B.

Por otra parte, Calixto *et al.* (2004) indican que los triterpenos y las saponinas, así como algunos alcaloides, regulan la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-1 β , contribuyendo así, posiblemente, al efecto anti-inflamatorio que presenta *H. patens*.

El efecto anti-inflamatorio de los extractos etanólicos de ambas especies, que mostró semejanza con el del Meloxicam, evidencía la posibilidad de que estas especies presenten como mecanismo de acción alternativo la inhibición de la COX-2. Tal enzima genera eicosanoides proinflamatorios los cuales estimulan la expresión de NF- κ B, la cual genera la activación de citocinas proinflamatorias (Joussen *et al.*, 2002).

De acuerdo con lo anterior, proponemos la hipótesis de que ambas especies pueden inhibir el proceso inflamatorio a través de dos mecanismos principales: a) la inhibición de factores de transcripción como el NF- κ B, el cual es el responsable de la transcripción de genes, incluidos los genes de citocinas como TNF- α , que activan la secreción de citocinas proinflamatorias (Joussen *et al.*, 2002); y b) la inhibición de la COX-2.

Finalmente, este trabajo corroboró el efecto anti-inflamatorio de las especies empleadas tradicionalmente por la comunidad *xí'uiy*, así como la efectividad del régimen posológico empleado. Se encontró que, aunque ambas especies son útiles en su efecto anti-inflamatorio, *C. urticifolia* presenta efectos terapéuticos a dosis 10 veces menores que *H. patens*. Esto permite sugerir la consideración de esta especie vegetal en investigaciones posteriores, especialmente en lo relacionado con el tratamiento de la Diabetes mellitus por la relación existente del TNF- α con el tejido adiposo y la resistencia a la insulina.

REFERENCIAS

- Abad, M.J.; P. Bermejo; A. Villar. 1993. Anti-inflammatory activity of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum*. J Nat Prod. 56(7):1164-1167.
- Abbas, A.K.; A.H. Lichtman; J.S. Pober. 2003. Inmunología celular y molecular. Cuarta edición. McGraw-Hill-Interamericana. España, 577p.
- Aquino, R.; V. De Feo; F. De Simone; C. Pizza; G. Cirino. 1991. Plant metabolites, new compounds and anti-inflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. J Nat Prod. 54(2):453-459.
- Arredondo Z., D. 2008. Evaluación del efecto anti-inflamatorio del extracto etanólico de *Heliopsis longipes* S.F. Blake. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. UASLP. San Luis Potosí, S.L.P., México. 55p.
- Arvigo, R.; A. Camporese; M.J. Balick; R.G. Esposito; N. Morsellino; F. De Simone; A. Tubaro. 2003. Screening of antibacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). J Ethnopharmacol. 87:103-107.
- Barozzi, N.; S.E. Tett. 2008. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, cyclooxygenase-2 inhibitors and paracetamol use in Queensland and in the whole of Australia. BMS Health Serv Res. Sep; 8:196 disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1472-6963/8/196>.
- Bellingan, G. 1999. Inflammatory cell activation in sepsis. Br Med Bull. 55:12-29.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>
- Calixto, J.; M.M. Campos; M.F. Otuki; A.R.S. Santos. 2004. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. Modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. Planta Med. 70:93-103.
- Chemin, B., H. (1984). Los pames septentrionales de San Luis Potosí. Instituto Nacional Indigenista. Serie de investigaciones sociales. Colección Número 13. México. 249p.
- Cioffi, G.; R. Sanogo; D. Diallo; G. Romussi; N. De Tommasi. 2004. New compounds from an extract of *Vernonia colorata* leaves with anti-inflammatory activity. J Nat Prod. 67:389-394.
- Domínguez, R., C. A. 2007. Adiponectina: el tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. Rev Endocrinol Nut. 15(3):149 – 155.
- Flach, A.J. 1992. Cyclooxygenase inhibitors in ophthalmology. Surv Ophthalmology. 32:29-38.
- Gamboa – Angulo, M. M.; J. Cristóbal – Alejo; I. L. Medina – Baizabal; F. Chi-Romero; R. Méndez-González; P. Simá-Polanco; F. May-Pat. 2008. Antifungal properties of

- selected plants from the Yucatán Península, México. *World J Microbiol Biotechnol.* 24:1955-1959.
- García B., L.; D.M. Rojo D.; L.V. García G.; M. Hernández A. 2002. Plantas con propiedades anti-inflamatorias. *Rev Cubana Invest Biomed.* 21(3):214-216.
- Giangaspero, A.; C. Pontj; F. Pollastro; G. Del Favero; R. Della Loggia; A. Tubaro; G. Appendino; S. Sosa. 2009. Topical anti-inflammatory activity of Eupatilin, a lipophilic flavonoid from mountain wormwood (*Artemisia umbelliformis* Lam.). *J Agric Food Chem.* 57:7726-7730.
- Gomez-Beloz, A.; J.C. Rucinski; M.J. Balick; C. Tipton. 2003. Double incision wound healing bioassay using *Hamelia patens* from El Salvador. *J Ethnopharmacol.* Jun;88:169-173.
- Gosling, P. 1998. The cellular immune and metabolic response to trauma. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 35:59-112.
- Guzmán G., P.; E. García-Chávez; J. Fortanelli M.; B.I. Juárez F. 2010. Exploración etnobotánica de especies vegetales con propiedades anti-inflamatorias de la región *x'iuy* de La Palma, municipio de Rayón, San Luis Potosí.
- Hansra, P.; E. Morán; V. Fornasier; E. Bogoch. 2000. Carrageenan-induced arthritis in the rat. *J Inflamm.* 24:99-109.
- INEGI. (2005). Censo de población y vivienda 2005. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- Joussen, A.M.; V. Poulaki; N. Mitiades; B. Kirchhoff; K. Koizumi; S. Döhmen; A. P. Adamis. 2002. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs prevent early diabetic retinopathy via TNF- α suppression. *FASEB J.* 16:438-440. Full text: <http://www.fasebj.org/cgi/doi/10.1096/fj.01-0707fje>
- Kenneth, M.; F. Jamali. 2005. Drug disease interactions: role of inflammatory mediators in disease end variability in drug response. *J Pharm Pharmaceut Sci.* 8:602-625.
- Kim, H.P.; K.H. Son; H.W. Chang; S.S. Kang. 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J Pharmacol Sci.* 96:229-245.
- Krakof, J.; T. Funahashi; C.D.A. Stehouwer; C.G. Schalkwijk; S. Tanaka; Y. Matsuzawa; S. Kobes; P.A. Tataranni; R.L. Hanson; W.C. Knowler; R.S. Lindsay. 2003. *Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian.* *Diab Care.* 26:1745 – 1751.
- Lalone, C.A.; K.D.P. Hammer; L. Wu; J. Bae; N. Leyva; Y. Liu; A.K.S. Solco; J.A Kraus; P.A. Murphy; E.S. Wurtele; O.K. Kim; K. Il Seo; M.P. Widrlechner; D.F. Birt. 2007.

Echinacea species and alkamides inhibits prostaglandin E₂ production in RAW264.7 mouse macrophage cells. J Agric Food Chem. 55:7314-7322.

Lozano C. O. 2002. Adipocitoquinas. Rev Endocrinol Nut. 10(3): 147–150.

Máñez, S.; M. del C. Recio; I. Gil; C. Gómez; R.M. Giner; P.G. Waterman; J.L. Ríos. 1999. A glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents of *Inula viscosa*. J Nat Prod. 62:601-604.

Matsuura, N.; M. Yamada; H. Suzuki; N. Hasegawa; C. Kurosaka; M. Ubukata; T. Tanaka; M. Inuma. 2005. Inhibition of preadipocyte differentiation by germacranolides from *Calea urticifolia* in 3T3-L1 cells. Biosci Biotechnol Biochem. 69(12):2470-2474.

Mena-Rejón, G.; E. Caamal-Fuentes; Z. Cantillo-Ciau; R. Cedillo-Rivera. 2009. *In vitro* cytotoxic activity of nine plants used in mayan traditional medicine. J Ethnopharmacol. Nov;121:462-465.

Nakagawa, Y.; M. Inuma; N. Matsuura; K. Yi; M. Naoi; T. Nakayama; Y. Nozawa; Y. Akao. 2005. A potent apoptosis – inducing activity of a sesquiterpene lactone, arucanolide, in HL60 cells: a crucial role of apoptosis – inducing factor. J Pharmacol Sci. 97:242-252.

Nantel, F.; D. Denis; R. Gordo; A. Noethey; M. Cirino. 1999. Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. Br J Pharmacol. 4:853-859.

Ohguchi, K.; M. Ito; K. Yokoyama; M. Inuma; T. Itoh; Y. Nozawa; Y. Akao. 2009. Effects of sesquiterpene lactones on melanogenesis in mouse B16 melanoma cells. Biol Pharm Bull. Feb; 32(2):308-310.

Pérez G., S.; M.A. Zavala S.; R. Vargas S.; E. Hernández Z.; R.M. Pérez G. 1996. Antidiarrhoeal activity of *Hamelia patens* metanol extract in rats and mice. Phytother Res. Dec; 10(8):686-688.

Recasens, M.; W. Ricart; J.M. Fernández – Real. 2004. Obesidad e inflamación. Revista Médica de la Universidad de Navarra. 48(2):49 – 54.

Reyes-Chilpa, R.; J. Rivera; M. Oropeza; P. Mendoza; B. Amekraz; C. Jankowski; M. Campos. 2004. Methanol extracts of *Hamelia patens* containing oxindole alkaloids relax KCl-induced contraction in rat Myometrium. Biol Pharm Bull. Oct; 27(10):1617-1620.

Ríos, M.Y.; A.B. Aguilar-Guadarrama. 2006. Alcalioides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). Rev Cubana Plant Med. May; 11(1):1-5. http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol11_1_06/pla06106.htm

Sosa S.; M.J. Balick; R. Arvigo; R.G. Esposito; C. Pizza; G. Altinier; A. Tubaro. 2002. Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. J Ethnopharmacol. Jul; 81(2):211-214.

- Téllez M., J. 2005. Adiponectina y disfunción endotelial. Rev Salud Pub Nut. Edición especial N° 16. Se puede consultar en: <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-16-2005/documentos/12.htm>
- Tilg, H.; A. Kaser; A.R. Moschen. 2006. How to modulate inflammatory cytokines in liver diseases. Liver Int, 26:1029-1039.
- Tsuji, R.F.; K. Hoshino; Y. Noro; N.M. Tsuji; T. Kurokawa; T. Masuda; S. Akira; B. Nowak. 2003. Suppression of allergic reaction by λ -carrageenan: Toll-like receptor 4/MyD88-dependent and -independent modulation of immunity. Clin Exp Allergy. 33:249-258.
- Ukiya, M.; T. Akihisha; K. Yusukawa; H. Tokuda; T. Suzuki; Y. Kimura. 2006. Anti-inflammatory, anti-tumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Calendula officinalis*) flowers. J Nat Prod. 69:1692-1696.
- Ukiya, M.; T. Akihisha; K. Yusukawa; K. Koike; A. Takahashi; T. Suzuki; Y. Kimura. 2007. Triterpene glycosides from the flower petals of sunflower (*Helianthus annuus*) and their anti-inflammatory activity. J Nat Prod. 70:813-816.
- Umemura, K.; T. Itoh; N. Hamada; Y. Fujita; Y. Akao; Y. Nozawa; N. Matsuura; M. Inuma; M. Ito. 2008. Preconditioning by sesquiterpene lactone enhances H₂O₂ – induced Nrf2/ARE activation. Biochem Biophys Res Comm. 368:948-954.

5.3. EXPERIMENTO 2

EFFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Calea urticifolia* (Mill.) DC. SOBRE LA SECRECIÓN DE ADIPONECTINA EN RATAS MACHO WISTAR SOMETIDAS A UNA DIETA RICA EN GRASAS

Guzmán G., P^{1.}; E. García-Chávez^{2.}; G.A. Soto P.^{2.}; N.C. Cárdenas O.^{3.}
¹Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. UASLP.
²Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. UASLP.
³Facultad de Ciencias Químicas. UASLP.

RESUMEN

El tejido adiposo (TA) es un órgano dinámico involucrado en muchos procesos fisiológicos y metabólicos. Actualmente se ha demostrado que el TA es capaz de secretar péptidos activos conocidos como adipocinas (AD), las cuales participan activamente en la regulación de la inflamación crónica (IC) generada en respuesta a la obesidad. Tal IC se caracteriza por una producción excesiva de AD y citocinas proinflamatorias, en conjunto con una disminución en la secreción de adiponectina. Esta relación, ha servido como indicador de resistencia a la insulina en tejidos sensibles a esta, como músculo esquelético, hígado y TA. La resistencia a la insulina es un factor importante que precede al desarrollo de diabetes mellitus tipo II (DM-II), enfermedad que se ha convertido en un problema de salud pública en nuestro país, por lo que el empleo de plantas medicinales es una alternativa potencial para el tratamiento y la prevención de esta enfermedad. En relación con esto último, estudios recientes sobre el uso de plantas medicinales por la etnia *xí'iu*y de la Región de La Palma en San Luis Potosí, destaca el uso de la especie *Calea urticifolia* (Mill.) DC, para el tratamiento tradicional de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y DM-II. Tal efecto antiinflamatorio actualmente fue corroborado experimentalmente en roedores, mostrando un efecto inhibitorio sobre la secreción de TNF- α e IL-1 β . Debido a la capacidad de esta especie para inhibir la secreción de citocinas proinflamatorias, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. sobre la secreción de adiponectina y de las citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-6 e IL-1 β en ratas macho Wistar sometidas a una dieta rica en grasas. Se dividieron dos grupos que fueron alimentados con 2 dietas (DE=dieta estándar y DM= dieta modificada rica en grasas), durante 80 días previo al inicio de las tratamientos, los cuales se dividieron en 4 grupos: a) DE + agua; b) DE + 0.088 mg/kg de extracto etanólico (Cu-DE); c) DM + agua y; d) DM + 0.088 mg/kg de extracto (Cu-DM). Los tratamientos fueron administrados durante 60 días manteniendo la dieta correspondiente en cada grupo. Se evaluaron los parámetros bioquímicos de glucosa, triglicéridos y colesterol total al inicio y cada 30 días de iniciar los tratamientos. Al final del tratamiento se tomaron muestras de sangre por punción cardiaca para determinar las concentraciones de TNF- α , IL-6, IL-1 β y adiponectina a través del método de ELISA. El extracto etanólico de *C. urticifolia*, disminuyó la concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos en los grupos Cu-DE y Cu-DM. El grupo DM mostró un incremento en la ganancia de peso, así como un aumento en la concentración de los parámetros bioquímicos. Los grupos Cu-DE y Cu-DM mostraron una inhibición en la secreción de TNF- α , IL-1 β e IL-6. Se observó un aumento significativo de la secreción de adiponectina en el grupo DM con respecto del grupo DE, así como también en el grupo Cu-DM con respecto del grupo DM. Por lo tanto, el extracto etanólico de *C. urticifolia* tiene la capacidad de inhibir la secreción de citocinas proinflamatorias, así como de inducir la secreción de adiponectina con una ingesta rica en grasas.

1. INTRODUCCIÓN

El tejido adiposo (TA), es el principal reservorio de lípidos en el organismo. Es un tejido constituido por adipocitos inmersos en una red de fibras de colágeno, fibroblastos, preadipocitos, adipocitos maduros y macrófagos (Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005; Elissondo *et al.*, 2008). En la actualidad, el TA es considerado un órgano dinámico involucrado en muchos procesos fisiológicos y metabólicos. Se conoce que expresa y secreta una gran variedad de péptidos activos conocidos como adipocitocinas o adipocinas (AD), las cuales tiene un papel primordial en la homeostasis de la ingesta de alimentos, la regulación del equilibrio energético, la acción de la insulina y el metabolismo de la glucosa, (Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005).

Las AD se dividen en: proinflamatorias que incluyen al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 6 (IL-6), la interleucina 1 beta (IL-1 β), la leptina y la resistina (Musri, 2004; Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005; Domínguez, 2007; Elissondo *et al.*, 2008; Cano *et al.*, 2009; Skop *et al.*, 2009), y las anti-inflamatorias siendo la más destacada la adiponectina, a la que se le ha atribuido un papel antidiabético, anti-inflamatorio y antiaterogénico (Guerremillo, 2004; Yao *et al.*, 2005; Bastard *et al.*, 2006; Domínguez, 2007; Elissondo *et al.*, 2008).

La síntesis de AD se ve afectada en respuesta a alteraciones de la masa del TA, estudios recientes han mostrado que la obesidad y las patologías asociadas a la misma, presentan una respuesta inflamatoria crónica (IC) que genera una producción anormal de AD proinflamatorias, un aumento de los reactantes de fase aguda y la activación de vías de señalización relacionadas con las respuestas inflamatorias (Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005), además de un decremento de la AD anti-inflamatoria.

La IC se caracteriza por una respuesta al estímulo en los adipocitos y macrófagos que residen en el TA (Bastarrachea *et al.*, 2007). La habilidad funcional de estos dos tipos celulares coincide y se sobrepone. Los macrófagos además de participar en la atracción, englobamiento y almacenamiento de lípidos, generan la secreción de citocinas proinflamatorias (como TNF- α , IL-6 e IL-1 β) en conjunto con los adipocitos, lo que sugiere una potencial e importante influencia de dichos macrófagos en promover la resistencia a la insulina (Joussen *et al.*, 2002; Weisberg *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2003; Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005; Bastarrachea *et al.*, 2007; Hoareau *et al.*, 2010). De acuerdo con lo anterior, la secreción de AD y citocinas proinflamatorias inducen la generación de la IC, la cual interrelaciona a la obesidad, la enfermedad cardiovascular y la diabetes mellitus tipo II (DM-II).

Por otra parte, diversos estudios asocian una baja concentración de adiponectina con procesos inflamatorios. Se ha encontrado una relación inversamente proporcional de la adiponectina con el TNF- α (Télez, 2005; Bastard *et al.*, 2006; Antuna-Puente *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2008; Walsh, 2009). De acuerdo con Bastard *et al.* (2006), también existe una relación inversamente proporcional entre la adiponectina y la citocina IL-6. Esto significa que la adiponectina se encuentra relacionada con procesos inflamatorios de bajo grado, y dada la relación con las citocinas proinflamatorias (TNF- α e IL-6), tiene un efecto anti-inflamatorio en el organismo (Chen *et al.*, 2009). Por lo tanto, la adiponectina ha servido como un importante indicador en la prevención de la resistencia a la insulina, la cual puede llevar a DM-II (Musri, 2004; Domínguez, 2007; Antuna-Puente *et al.*, 2008; Elissondo *et al.*, 2008; Tilg y Moschen, 2008). Los mecanismos por los que la adiponectina ejerce sus diversas funciones incluyen la activación de los receptores PPAR α , involucrados en la

regulación del metabolismo de la glucosa y los lípidos; la modulación del estímulo de insulina y; el incremento en la oxidación de ácidos grasos a través de la activación de la cinasa de AMP (Domínguez, 2007; Elissondo *et al.*, 2008).

De acuerdo con lo anterior, es evidente la relación que existe entre la presencia del proceso inflamatorio del TA, derivado de la obesidad y la resistencia a la insulina, con la inducción de DM-II.

En nuestro país, la DM-II es un problema de salud pública alarmante, y que día a día se ve incrementada la incidencia de la enfermedad incluso en las poblaciones indígenas. En estas últimas, el problema más acentuado en el incremento de casos con DM-II se debe principalmente a la falta de prevención y diagnóstico temprano, así como a lo costoso de su tratamiento (Guzmán *et al.*, 2010a). Es por ello que el uso la medicina tradicional en las comunidades indígenas es una práctica frecuente para contrarrestar sus problemas de salud.

Estudios recientes investigados por nuestro grupo de trabajo sobre el uso de plantas medicinales por la etnia *xí'uiy* de la Región de La Palma en San Luis Potosí, destacan el uso de la especie *Calea urticifolia* (Mill.) DC, para el tratamiento tradicional de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y diabetes mellitus (Guzmán *et al.*, 2010a).

Guzmán *et al.* (2010b), valoró en roedores experimentalmente el efecto anti-inflamatorio atribuido de manera tradicional a *C. urticifolia*, mostrando un efecto inhibitor sobre la secreción de TNF- α e IL-1 β . Debido a la capacidad de esta especie para inhibir la secreción de citocinas proinflamatorias, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. sobre la secreción de adiponectina y de las citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-6 e IL-1 β , en un modelo con una dieta rica en grasas.

2. METODOLOGÍA

2.1 Recolección del material vegetal

Calea urticifolia, se recolectó el 25 de marzo de 2009 en los alrededores de la comunidad Potrero del Carnero en el municipio de Rayón, S.L.P., en dos puntos, uno ubicado en 21°52'29.8" N y 099°27'08.4"W, a 903 msnm, y otro situado en 21°52'27.6"N y 099°27'00.6"W, a una altitud aproximada de 901 m.

2.2 Preparación del material vegetal

Una vez obtenido el material vegetal se colocaron los ejemplares en papel adsorbente por un período de 48 h, con la finalidad de separar las partes aéreas de la planta; posteriormente se secaron las hojas por un periodo de 15 días al abrigo de la luz a una temperatura de 22°C.

Las hojas se pulverizaron de manera independiente (100 g de hojas secas), en un molino eléctrico (Osterizer Pulsematic) y se sometieron a una extracción por maceración con etanol absoluto en relación 1:4 p/v. La mezcla se dejó macerar por un período de 10 días, con agitación periódica. Posteriormente, la mezcla se filtró en cápsulas de porcelana a

peso constante, y se eliminó el solvente a temperatura ambiente. El concentrado del extracto se guardó en tubos estériles a 4°C hasta su uso. El rendimiento de extracto etanólico fue de 1.95 g, suficiente para todas las determinaciones.

2.3 Animales experimentales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar adultas, de 100 a 120 g de peso corporal, las cuales se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UASLP. Los animales fueron tratados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, según las especificaciones técnicas de producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Los animales se mantuvieron bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h a una temperatura de 22 ± 1 °C y una humedad relativa de 50 ± 5%.

Se utilizaron 24 unidades experimentales, las cuales se dividieron aleatoriamente en dos grupos para ser sometidas a las siguientes dietas:

Dieta estándar (DE). Se utilizó una dieta estándar de laboratorio con un aporte calórico de 415 kcal/100g de alimento Formulab Chow 5008.

Dieta rica en grasas (DM). Se utilizó una dieta rica en grasas con un aporte calórico de 547 kcal/100g de alimento que se estableció con la modificación del alimento estándar de laboratorio Formulab Chow 5008, de acuerdo con especificaciones establecidas en la bibliografía (De Souza *et al.*, 2005; Fam *et al.*, 2006; Pan *et al.*, 2006; Buettner *et al.*, 2007; Matyskova *et al.*, 2007).

Se evaluó la ganancia de peso de los animales durante un periodo de 80 días, así como el consumo de alimento y agua. Al final del periodo de evaluación, se determinó la concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos en sangre.

2.4 Tratamientos

Las unidades experimentales correspondientes a las dietas, se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos para ser sometidas a los siguientes tratamientos:

Grupo	Tratamiento
DE	2 ml/kg de agua + dieta estándar.
Cu-DE	0.088 mg/kg de extracto etanólico de <i>Calea urticifolia</i> + dieta estándar. La dosis empleada de extracto se obtuvo de una exploración etnobotánica previa sobre plantas con propiedades anti-inflamatorias en la región de La Palma, Rayón, S.L.P. (Guzmán <i>et al.</i> , 2010a y b).
DM	2 ml/kg de agua + dieta rica en grasas.
Cu-DM	0.088 mg/kg de extracto etanólico de <i>C. urticifolia</i> + dieta rica en grasas.

Los tratamientos fueron administrados por vía intragástrica diariamente durante 60 días, después de 80 días de exposición a las diferentes dietas, las cuales se mantuvieron hasta el final del experimento.

La inspección general diaria de los animales incluyó el registro del consumo diario de agua y alimento. El peso corporal de los animales se cuantificó cada tercer día. A 1, 30 y 60 días de iniciado el tratamiento, los grupos fueron sometidos a una extracción sanguínea por la vena caudal a través de la técnica de goteo, para determinar los parámetros bioquímicos. Los animales fueron puestos en ayuno 12 h antes de tomar las muestras.

Para determinar la concentración de adiponectina y de las citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-1 β e IL-6, al final del experimento. Para ello se anestesiaron los animales con cloroformo para extraer la sangre mediante punción cardíaca.

En ambos casos, la sangre se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos para separar el plasma sanguíneo, y posteriormente se conservó en congelación a -20°C , hasta su análisis.

2.5 Parámetros bioquímicos

Con la finalidad de establecer la influencia de la dieta rica en grasas con el estado metabólico de los animales experimentales, se determinaron los siguientes parámetros:

Glucosa. Se determinó con la ayuda de un kit comercial (Spinreact), el cual mide la concentración de glucosa a través de una reacción colorimétrica de oxidación (método de Trinder). La glucosa se oxida en presencia de glucosa oxidasa, para formar peróxido de hidrógeno y gluconato; el peróxido se hace reaccionar con fenol y 4-aminofenazona, con la mediación de peroxidasa, para dar lugar a un producto coloreado. La intensidad del color es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra.

Colesterol total. Se empleó un kit comercial (Spinreact) mediante el cual, los ésteres de colesterol, con la intervención de la enzima colesterol esterasa, se separan en colesterol y ácidos grasos; el colesterol se oxida en una reacción catalizada por la enzima colesterol oxidasa, para formar peróxido de hidrógeno, el cual reacciona con fenol y 4-aminofenazona en presencia de peroxidasa, para formar un producto coloreado. La intensidad del color es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra.

Triglicéridos. Se utilizó un kit comercial (Spinreact). Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa liberan glicerol y ácidos grasos libres; el glicerol se fosforila en presencia de glicerolquinasa y con ayuda de ATP para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y ADP; el G3P se convierte en dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno en presencia de glicerolfosfato deshidrogenasa; el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona y p-clorofenol, reacción catalizada por peroxidasa, para formar un producto de color rojo. La intensidad de la coloración es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra.

2.6 Evaluación del efecto del extracto etanólico de Calea urticifolia sobre la secreción de TNF- α , IL-1 β e IL-6.

Para determinar las concentraciones de TNF- α , IL - 1 β e IL - 6 se utilizó el método de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), de acuerdo con las especificaciones de cada kit comercial (Peprotech Inc.). Las muestras fueron descongeladas a 4°C y se colocó 100 μl del anticuerpo primario de captura, disuelto en solución PBS 1x, en cada pozo de la placa (se realizaron tres repeticiones de cada muestra); se cubrió la placa y se incubó toda la noche a 4°C . Pasado el tiempo de incubación, se lavó la placa con PBS/Tween y se

agregaron 200 µl de solución bloqueadora a cada pozo, se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente por 1 h. Después del tiempo de incubación, se lavó nuevamente la placa con PBS/Tween y se agregaron 50 µl de muestra problema o de estándar, según el pozo correspondiente, se cubrió la placa y se incubó a 4°C toda la noche. Pasado este tiempo de incubación, se lavó la placa en PBS/Tween, se agregaron 100 µl del anticuerpo secundario, diluido en solución bloqueadora, a cada pozo, se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente por 1 h. Después del tiempo de incubación, se lavó la placa con PBS/Tween, se agregaron 100 µl de avidina-peroxidasa a cada pozo, se cubrió la placa y se incubó en oscuridad por 30 min. Se lavó inmediatamente después la placa con PBS/Tween y se adicionaron 100 µl de ABTS/H₂O₂ por pozo. Se determinó la lectura de la placa a través del lector de microplacas para ELISA (Multiskan Ascent), en una longitud de onda de 405nm.

2.7 Evaluación del efecto del extracto etanólico de Calea urticifolia sobre la secreción de adiponectina.

La cuantificación de la concentración de adiponectina en plasma sanguíneo se llevó a cabo mediante el empleo de un KIT comercial para ELISA (Biosource) de acuerdo con las especificaciones del kit, para lo cual se llevó a cabo el siguiente procedimiento: se prepararon cada uno de los reactivos de acuerdo con las indicaciones del manual; se colocó 100 µl del estándar, del control positivo y de las muestras problema (se realizaron tres repeticiones de cada muestra), según el pozo correspondiente, se cubrió la placa y se incubó a 37°C durante 1 h. Después del tiempo de incubación, se lavó cada pozo tres veces con 250 µl de solución de lavado 1x y después se agregó 100 µl del anticuerpo secundario en cada pozo, se cubrió la placa y se incubó a 37°C durante 1 h. Pasado el tiempo de incubación, se lavó tres veces cada pozo con 250 µl de solución de lavado 1x y se agregó 100 µl de detector 1x en cada pozo, se cubrió la placa y se incubó a 37°C durante 1 h. Pasado este tiempo de incubación, se lavó cinco veces cada pozo con 250 µl de solución de lavado 1x y se agregó 100 µl de sustrato en cada pozo, se cubrió la placa y se incubó en oscuridad y a temperatura ambiente durante 20 minutos. Finalmente se agregó 100 µL de solución de paro de la reacción (stop) a cada pozo. Se tomó la lectura de la placa con la ayuda del lector de microplacas para ELISA (Multiskan Ascent) en 450 nm de longitud de onda.

2.8 Análisis de resultados.

Para el análisis de los resultados se utilizó el software Stata 8.0 (Stata, Corp Collage Station Tx), en el CINVESTAV-Zacatenco. Se empleó un modelo estadístico completamente al azar; para los datos obtenidos al final del experimento, se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, usando como prueba *post hoc* Bonferroni; para los datos que se tomaron a lo largo del experimento, se empleó un ANOVA de dos vías con mediciones repetidas usando *post-hoc* la prueba de Bonferroni. Se consideró como valor de significancia $p < 0.05$.

3. RESULTADOS

3.1 Evaluación del efecto de la dieta rica en grasas

Se presentó una ganancia de peso durante los 80 días de exposición a las dietas correspondientes (Figura 1). El grupo DM, mostró diferencias significativas a partir de los 65 días, con un incremento del 14.3% respecto al grupo DE.

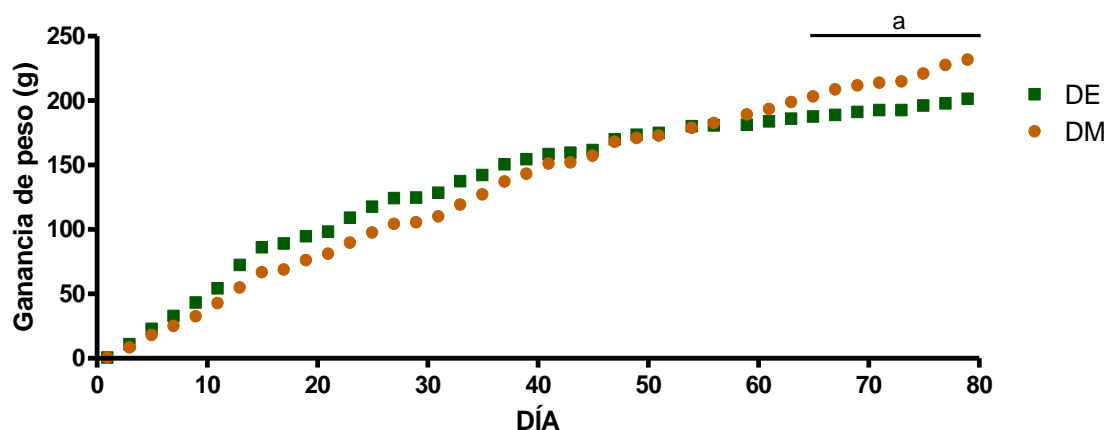


Figura 1. Efecto de la dieta rica en grasas sobre el peso corporal. Los valores representan la media \pm EE; n=12 por tratamiento. a= $p < 0.05$ DM vs DE; DE= dieta estándar; DM= dieta rica en grasas.

El consumo de alimento y agua en el grupo expuesto a la DM tuvo una disminución del 14.54% del consumo de alimento y un 19.6% del consumo de agua con respecto al grupo DE ($p < 0.001$). Para los parámetros bioquímicos cuantificados al tiempo cero de los tratamientos, el grupo con DM tuvo una concentración de glucosa de 141.5 ± 10.28 mg/dl, mientras que la concentración del grupo expuesto a DE fue de 106.8 ± 8.07 mg/dl ($p < 0.001$). Tal incremento significativo en el grupo con DM corresponde a un 24.5%. Para colesterol total, el grupo DE presentó una concentración de 91.71 ± 5.44 mg/dl, mientras que en el grupo DM fue de 106.6 ± 2.41 mg/dl. Esto representó un incremento significativo ($p < 0.001$) del 14% con respecto al grupo DE. El grupo DM presentó un incremento en la concentración de triglicéridos del 22.7% con respecto al grupo DE, con una concentración de triglicéridos del grupo DM de 150.3 ± 4.27 mg/dl, y del grupo DE de 116.2 ± 3.96 mg/dl.

3.2 Evaluación del efecto del extracto etanólico de Calea urticifolia sobre peso, consumo de alimento y agua

Hubo un efecto de los tratamientos sobre el peso corporal posterior a la exposición de las dietas durante 80 días y su evolución ligada a los tratamientos (Figura 2). Los grupos de ratas DE y Cu-DE no mostraron diferencia significativa en la ganancia de peso durante el desarrollo del experimento. Así como tampoco hubo diferencia significativa entre los grupos DM y Cu-DM. Sin embargo, el grupo DM mostró diferencia significativa con relación al grupo DE ($p < 0.001$), con un incremento total en la ganancia de peso al final del experimento, del 36.27%.

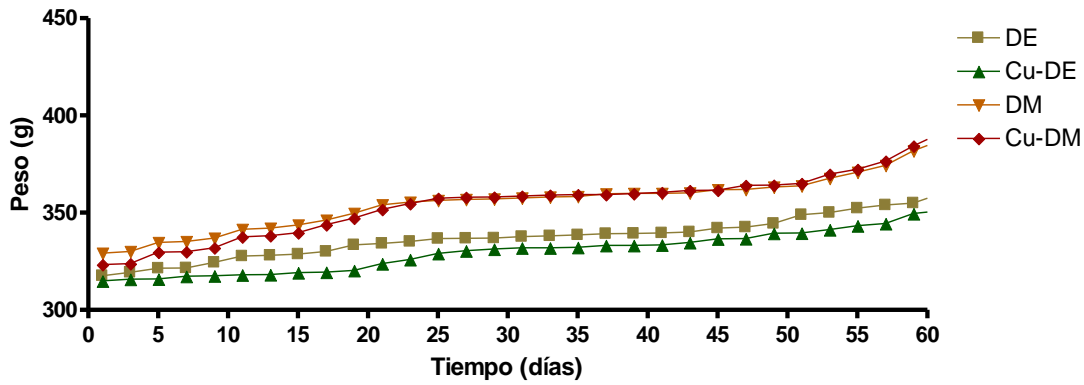


Figura 2. Efecto de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* en el peso corporal. Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

La Figura 3 presenta el efecto de la administración del extracto sobre el consumo de alimento al final del tratamiento. No hubo diferencia significativa entre los grupos DE, Cu-DE y Cu-DM. El grupo Cu-DM presentó un incremento del 10.2% en el consumo de alimento con respecto al grupo DM ($p < 0.01$).

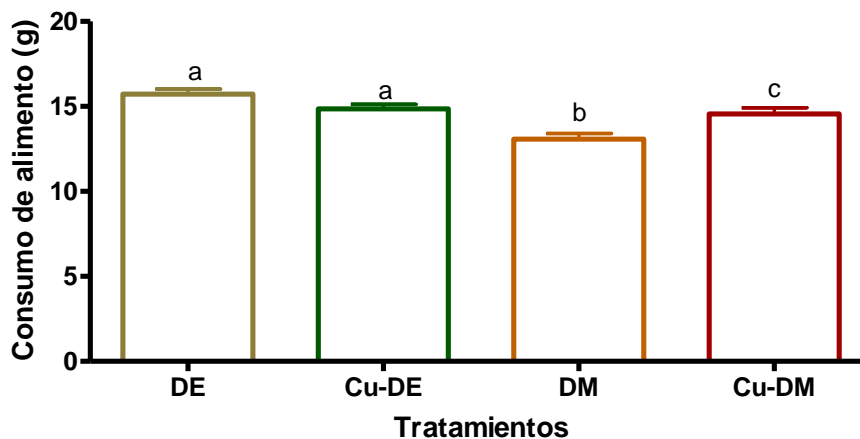


Figura 3. Efecto de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* sobre el consumo de alimento al final del tratamiento. Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

En relación con el efecto de la administración del extracto de *C. urticifolia* sobre el consumo de agua, no se presentó diferencia significativa entre los grupos DE y Cu-DE, mientras que el grupo Cu-DM presentó un incremento del 14.7% en el consumo de agua con respecto al grupo DM ($p < 0.001$) (Figura 4).

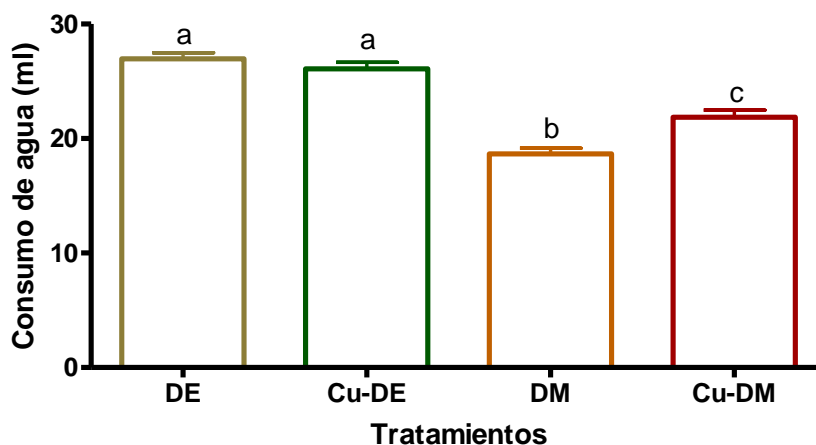


Figura 4. Efecto de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* sobre el consumo de agua al final del tratamiento. Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

3.3 Evaluación del efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* sobre los parámetros bioquímicos.

En la Figura 5 se presenta la influencia de los tratamientos sobre la concentración de glucosa. Al día 1 de iniciada la administración del extracto, los grupos DE y Cu-DE no mostraron diferencias significativas en la concentración de glucosa, con un valor de 106.8 ± 8.075 mg/dl para el grupo DE y de 103.8 ± 4.349 mg/dl en el grupo Cu-DE. Sin embargo, el grupo Cu-DM presentó una disminución significativa del 25.8% en la concentración de glucosa (105 ± 6.928 mg/dl), comparado con el grupo DM (141.5 ± 10.28 mg/dl).

Al día 30, el grupo DE presentó una concentración de glucosa de 97.25 ± 10.34 mg/dl, mientras que el grupo Cu-DE presentó una concentración de 78.25 ± 3.775 mg/dl, lo que representa una disminución significativa del 19.5% en la concentración de glucosa con respecto del grupo DE. El grupo DM mostró una concentración de 130 ± 15.56 mg/dl, y el grupo Cu-DM presentó una concentración de 79.7 ± 8.183 mg/dl ($p < 0.01$), lo que representa una disminución del 38.7% en la concentración de glucosa con respecto del grupo DM (Figura 5).

A los 60 días del tratamiento, el grupo DE mostró una concentración de glucosa de 103.5 ± 6.38 mg/dl, mientras que en el grupo Cu-DE la concentración final fue de 82 ± 9.345 mg/dl ($p < 0.05$), lo que indica una disminución del 20.78% con respecto del grupo DE. El grupo DM, al final del experimento mostró una concentración de glucosa de 137.8 ± 11.76 mg/dl, mientras que la concentración del grupo Cu-DM fue de 79.20 ± 9.628 mg/dl, lo que representa una disminución del 42.52% con respecto del grupo DM (Figura 5).

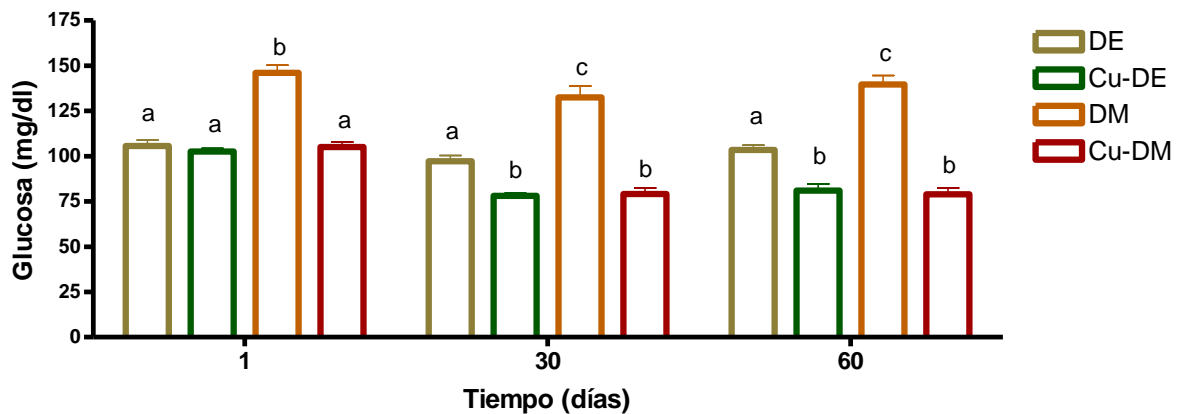


Figura 5. Concentración de glucosa sérica después de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

De acuerdo con la evaluación del efecto del extracto sobre la concentración de colesterol total en sangre (Figura 6), los grupos DE y Cu-DE no mostraron diferencia significativa en la concentración de colesterol, con valores de 91.7 ± 5.438 mg/dl y 83 ± 2.55 mg/dl respectivamente. El grupo Cu-DM (82.6 ± 5.413 mg/dl) mostró una disminución significativa de colesterol sanguíneo del 22.5% con respecto del grupo DM (106.6 ± 2.408 mg/dl).

A los 30 días de inicio del tratamiento, no se presentó diferencia significativa entre los grupos DE y Cu-DE, con una concentración de 94 ± 4.472 mg/dl y de 94.75 ± 1.5 mg/dl, respectivamente (Figura 6). El grupo DM mostró una concentración de colesterol de 110.2 ± 8.786 mg/dl, y el grupo Cu-DM de 86.25 ± 3.594 mg/dl, lo que representa una disminución en la concentración de colesterol del 21.73% con respecto del grupo DM ($p < 0.001$).

A los 60 días de tratamiento, los grupos DE y Cu-DE no mostraron diferencias, mostrando valores de 93.14 ± 4.845 mg/dl y 91.8 ± 1.789 mg/dl, respectivamente. Sin embargo los grupos DM y Cu-DM, mostraron diferencias significativas en la concentración de colesterol total representado por una disminución del 23.6% en el grupo expuesto al extracto. La concentración de colesterol que presentó al final del experimento el grupo DM fue de 111.2 ± 5.762 mg/dl, mientras que la concentración final del grupo Cu-DM fue de 85 ± 5.657 mg/dl ($p < 0.001$) (Figura 6).

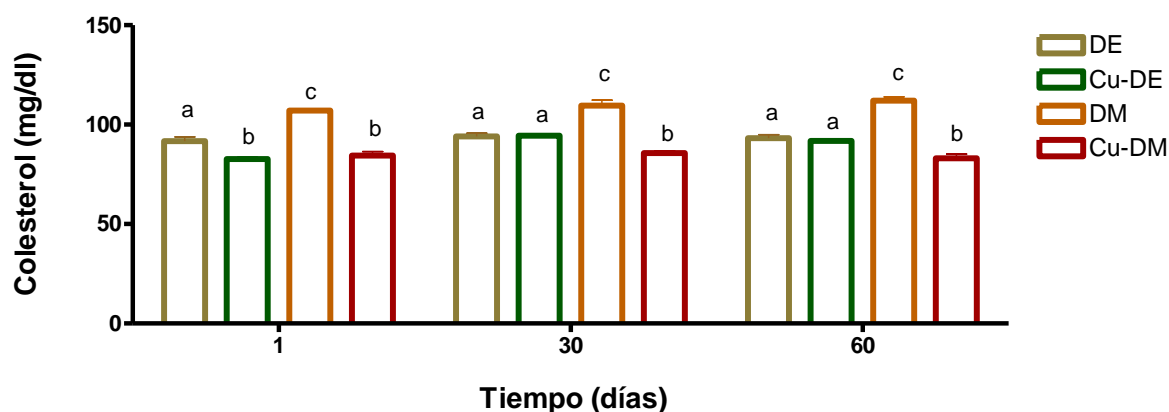


Figura 6. Concentración de colesterol total sérico, después de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

En relación con la concentración de triglicéridos (Figura 7), al inicio del tratamiento, el grupo Cu-DE (92.25 ± 4.992 mg/dl), mostró una disminución significativa en la concentración de triglicéridos en comparación con el grupo DE (116.2 ± 3.962 mg/dl). El grupo Cu-DM presentó una disminución de 28.94% en la concentración de triglicéridos (106.8 ± 12.97 mg/dl) en comparación con la concentración del grupo DM ($p < 0.001$), que fue de 150.3 ± 4.272 mg/dl.

A los 30 días de tratamiento, el grupo DE presentó una concentración de 115.8 ± 12.15 mg/dl, mientras que el grupo Cu-DE mantuvo una concentración de triglicéridos en sangre de 99.75 ± 12.69 mg/dl; no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos. El grupo DM tuvo una concentración de triglicéridos de 138.3 ± 2.872 mg/dl, mientras que el grupo Cu-DM tuvo una concentración de 106.3 ± 7.932 mg/dl, lo que representa una disminución del 23.14% en la concentración de triglicéridos con respecto del grupo DM ($p < 0.001$) (Figura 7).

A los 60 días, los grupos DE y Cu-DE no mostraron diferencias significativas, con valores de triglicéridos de 107 ± 15.36 mg/dl y 116.6 ± 7.266 mg/dl respectivamente. El grupo Cu-DM mostró una disminución significativa del 33.12 % en comparación con el grupo DM, con valores de 102.8 ± 6.946 mg/dl y 153.7 ± 15.37 mg/dl respectivamente (Figura 7).

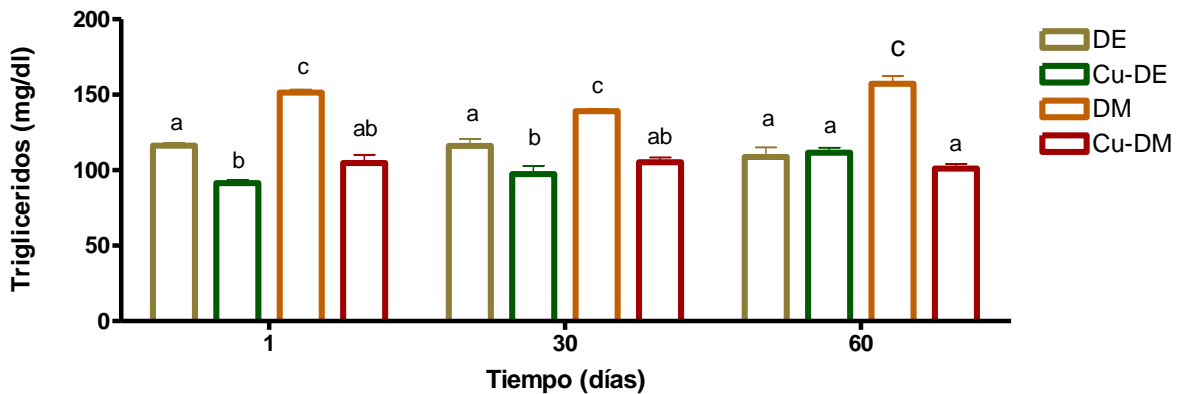


Figura 7. Concentración de triglicéridos séricos, después de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

3.4 Evaluación del efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* sobre la secreción de TNF- α , IL-1 β e IL-6.

De acuerdo con la evaluación del efecto de la administración del extracto etanólico de *C. urticifolia* sobre la inhibición de TNF- α , el grupo Cu-DE mostró una inhibición de TNF- α del 44.7% en comparación con el grupo DE ($p < 0.001$); mientras que el grupo Cu-DM mostró una inhibición de TNF- α de 60%, comparado con el grupo DM ($p < 0.001$) (Figura 8).

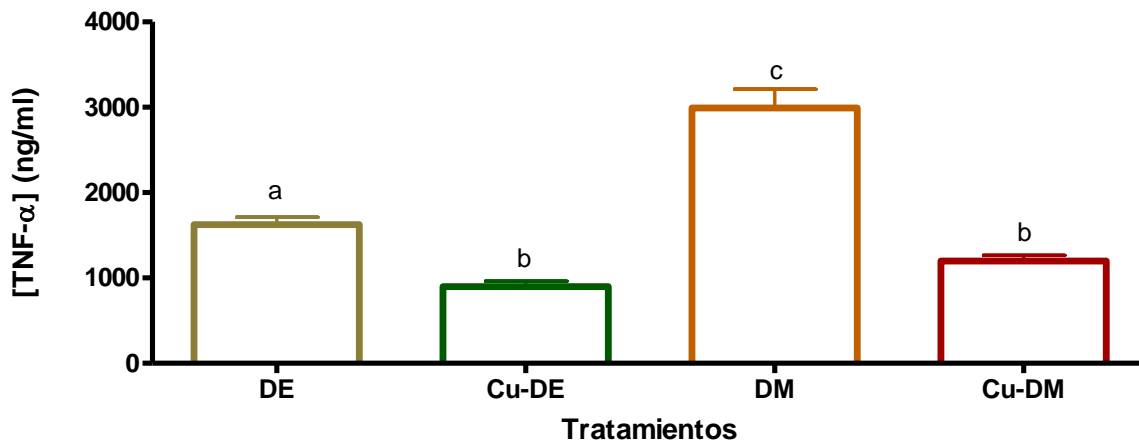


Figura 8. Efecto de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. sobre la secreción de TNF- α . Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

En lo que respecta a la inhibición de la citocina IL-1 β , el grupo Cu-DE presentó una inhibición del 31.1% con respecto del grupo DE ($p < 0.01$). En el grupo Cu-DM la disminución en la secreción de IL-1 β fue de 56.8% comparado con el grupo DM ($p < 0.001$) (Figura 9).

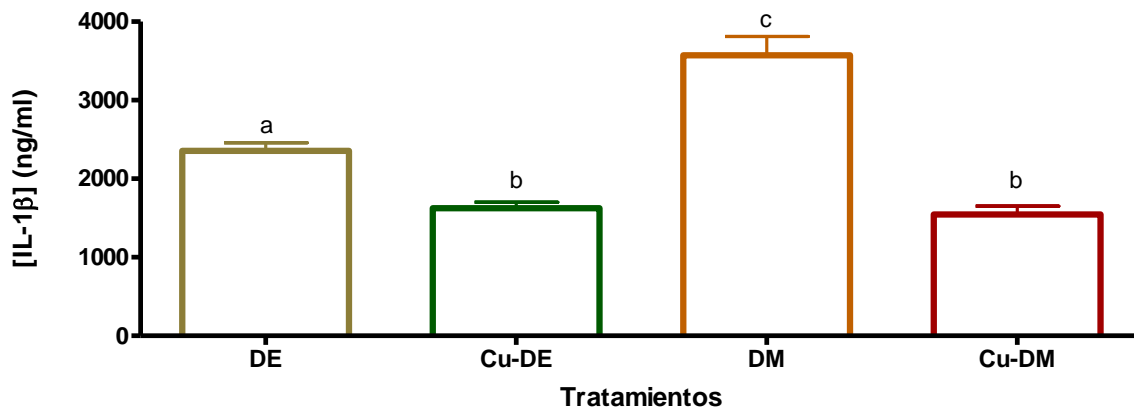


Figura 9. Efecto de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. sobre la secreción de IL-1 β . Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

En relación con la inhibición de la secreción de IL-6, no se presentó diferencia significativa entre los grupos DM y Cu-DM. El grupo Cu-DE presentó una inhibición en la secreción de IL-6 de 21.7% en comparación con el grupo DE ($p < 0.001$) (Figura 10).

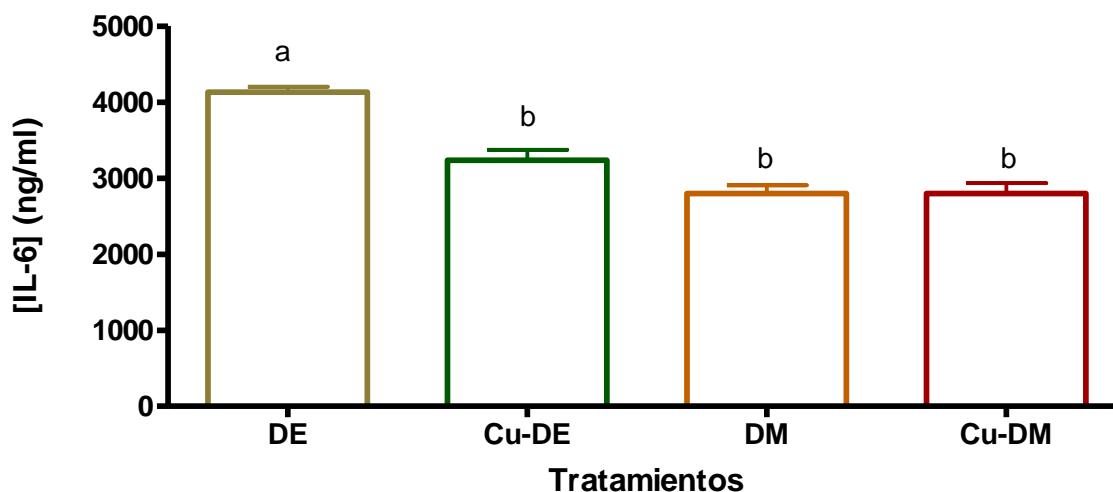


Figura 10. Efecto de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. sobre la secreción del IL-6. Los valores representan la media \pm EE; n=6 por tratamiento.

3.5 Evaluación del efecto del extracto etanólico de *Calea urticifolia* sobre la secreción de adiponectina

La Figura 11 muestra el efecto del extracto etanólico de *C. urticifolia* sobre la secreción de adiponectina. Los grupos DE y Cu-DE no mostraron diferencia significativa en la concentración de adiponectina. En el grupo Cu-DM, la concentración de adiponectina se incrementó en un 30%, respecto del grupo DM ($p < 0.001$). En el grupo DM se presentó un

aumento del 23.1% en la secreción de adiponectina en comparación con el grupo DE ($p < 0.05$).

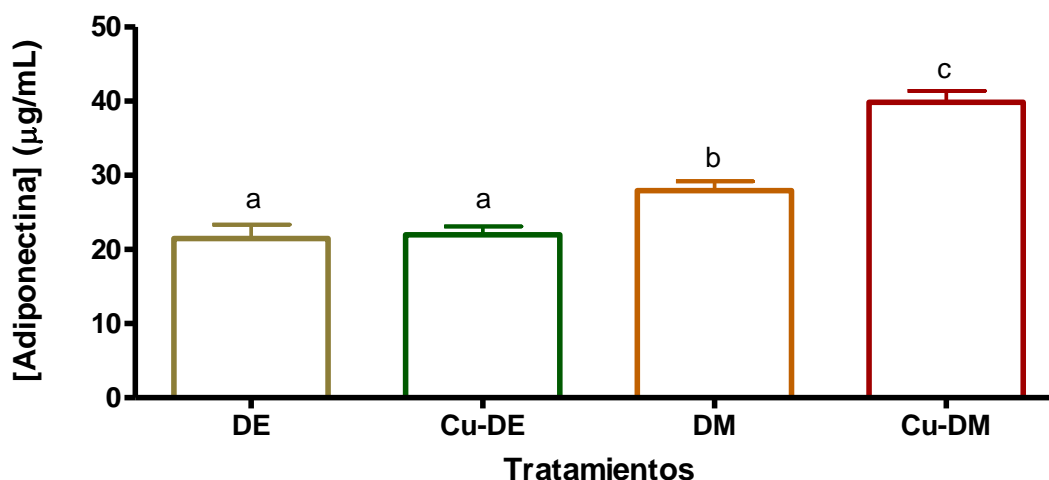


Figura 11. Efecto de la administración del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. sobre la secreción de adiponectina. Los valores representan la media \pm EE; $n=6$ por tratamiento.

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Uno de los factores que contribuye a la generación de un estado de obesidad es el consumo de una dieta rica en grasas, lo que lleva a la alteración de diversos parámetros bioquímicos como la concentración elevada de lípidos (colesterol y triglicéridos) y de glucosa (Buettner *et al.*, 2007; Amin y Nagy, 2009). La obesidad por otro lado, se asocia con la presencia de un proceso inflamatorio derivado del TA, precursor en parte, del desarrollo de resistencia a la insulina y DM-II (Bastarrachea *et al.*, 2007; Antuna-Puente *et al.*, 2008; Hoareau *et al.*, 2010).

Se empleó una dieta hipercalórica basada en grasas, con la cual, después de 80 días de alimentación, los animales mostraron un incremento significativo de 14.3% en el peso corporal, el cual corresponde con el aumento presentado en roedores en otros estudios que han empleado una dieta calórica similar (Buettner *et al.*, 2007). Por otra parte, se observó un incremento de 24.5% en la concentración de glucosa, de 14% en la concentración de colesterol total y de 22.7% en la concentración de triglicéridos, con respecto al grupo alimentado con la dieta estándar de laboratorio. Con base en lo anterior, este modelo de dieta rica en grasas resultó adecuado para la evaluación del efecto del extracto etanólico de *C. urticifolia* en relación a la inflamación crónica del TA que acompaña un estado de obesidad, lo cual además, significa un aumento en la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos debida a la acumulación excesiva de TA (Bastarrachea *et al.*, 2007).

De acuerdo con los resultados obtenidos sobre la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos durante el período de administración del extracto de *C. urticifolia*, el extracto presentó un efecto regulador sobre el metabolismo de los parámetros bioquímicos evaluados, debido a que los grupos Cu-DE y Cu-DM mostraron una disminución

significativa en la concentración de tales parámetros. El grupo Cu-DE, a pesar de que mostró una disminución significativa en la concentración de glucosa sérica en todos los tiempos respecto del grupo DE, ésta no se redujo más allá de la amplitud normal para ratas macho Wistar de 15 a 20 semanas de edad, que es de 95 ± 20 mg/dl (Dourmashkin *et al.*, 2005). Esta condición también se reflejó en la concentración de triglicéridos al tiempo 1 del tratamiento, sin embargo tal disminución se encontró, de igual forma, dentro de la amplitud normal que es de 95 ± 5 mg/dl (Lassiter *et al.*, 2008).

En relación con el análisis de la concentración de citocinas proinflamatorias, el grupo DM presentó un aumento significativo en la concentración de TNF- α e IL-1 β , en comparación con el grupo DE, lo que evidencia que la alimentación con la dieta rica en grasas favoreció el proceso inflamatorio relacionado con el TA (Yang *et al.*, 2004; Bastarrachea *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2008; Lee y Choue, 2009; Walsh, 2009). Esto se debe a que la acumulación de lípidos en el TA provoca un estrés celular que estimula la activación de factores de transcripción proinflamatorios como el factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) y la cinasa aminoterminal c-Jun (JNK), encargados de la transcripción de genes para la expresión de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β , IL-6 y de proteínas quimioatrayentes de monocitos (MCP-1), las cuales son secretadas por el adipocito en respuesta al estrés generado por los lípidos (Bastarrachea *et al.*, 2007).

El incremento de las citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 a su vez interfiere con la señalización del sustrato receptor de insulina 1 (IRS-1 por sus siglas en inglés) a través de la estimulación de la lipólisis, generando mayor cantidad de triglicéridos circulantes, lo que ocasiona una resistencia a la insulina (Weisber *et al.*, 2003; Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005; Tilg y Moschen, 2008). El aumento de MCP-1, provoca la infiltración de monocitos hacia el TA, para después unirse a receptores como el CCR2. Los monocitos se diferencian en macrófagos, y contribuyen a una inflamación local que deriva después en la activación de los macrófagos para generar una inflamación sistémica, resistencia a la insulina y disfunción endotelial, con una marcada hipoadiponectinemia (Bastarrachea *et al.*, 2007).

Por otra parte, estos mecanismos de acción se retroalimentan entre sí, puesto que la secreción de citocinas proinflamatorias y de MCP-1 atraen mayor cantidad de macrófagos circulantes hacia el TA que a su vez secretan citocinas, además de ejercer un estímulo de estrés sobre el adipocito, activando nuevamente las vías de señalización NF- $\kappa\beta$ y JNK (Abbas *et al.*, 2003; Hoareau *et al.*, 2010). Por otra parte, también se ha demostrado que los preadipocitos, en condiciones óptimas, tienen la capacidad de diferenciarse en macrófagos, de esta forma pueden también contribuir al proceso inflamatorio relacionado con un estado de obesidad (Weisberg *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2003; Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005; Bastarrachea *et al.*, 2007). Sin embargo, es necesario realizar estudios posteriores para corroborar este mecanismo.

La administración oral del extracto de *C. urticifolia* presentó un efecto inhibitorio significativo en la secreción de TNF- α e IL-1 β en los grupos Cu-DE y Cu-DM. En el caso del grupo DM, la concentración de IL-6 no mostró un incremento significativo, pero disminuyó en comparación con el grupo DE, tal efecto consideramos que posiblemente se deba a la acción de mediadores antiinflamatorios endógenos que afectan estrictamente a esta citocina. Tales resultados demuestran la capacidad del extracto etanólico de *C. urticifolia*, para inhibir la secreción de citocinas proinflamatorias inducidas por la ingesta de una dieta rica en grasas.

De acuerdo con los resultados del análisis de la concentración de adiponectina, el grupo DM presentó un aumento significativo de esta AD con respecto al grupo DE, comportamiento que ya se ha observado en otros estudios *in vivo* bajo una dieta rica en grasas durante un periodo de 2 y 4 semanas (Yang *et al.*, 2004). Tal hecho demuestra que la dieta empleada en este estudio modifica el metabolismo lipídico favoreciendo la IC y por ende la secreción de AD anti-inflamatorias como la adiponectina. Tal incremento consideramos que puede deberse a dos factores que están ampliamente interrelacionados: la presencia de AD inflamatorias y, como respuesta a la regulación del proceso inflamatorio, la síntesis de adiponectina. Por otra parte, el incremento de glucosa sérica favorece la activación de la hormona insulina, la cual es un regulador positivo sobre la secreción de adiponectina (Elissondo *et al.*, 2008).

Cabe señalar que en este estudio no se observó una disminución en la concentración de adiponectina a los 140 días de exposición a una dieta rica en grasa, como lo que se señala en algunos casos en donde la presencia del incremento en la secreción de TNF- α inhibe la expresión de adiponectina en el adipocito, por lo que la concentración de esta adipocina disminuye (Bastarrachea *et al.*, 2007; Domínguez, 2007; Elissondo *et al.*, 2008). Esta hipoadiponectinemia es causante, al igual que el aumento de las citocinas proinflamatorias, de un incremento en la concentración de triglicéridos, interfiriendo así con la captación de la insulina (Domínguez, 2007; Elissondo *et al.*, 2008).

Sin embargo, Yang *et al.* (2004) proponen que la disminución de adiponectina se da en etapas más avanzadas de exposición (aunque han mantenido la dieta hasta por 20 semanas, y observado el mismo comportamiento), y que la resistencia a la insulina inducida por la dieta rica en grasas puede aparecer con anterioridad a la hipoadiponectinemia inducida por la dieta.

No obstante, el grupo Cu-DM mostró un incremento significativo en la concentración de adiponectina, con respecto al grupo DM. Lo anterior sugiere que la administración del extracto de *C. urticifolia* induce la secreción de adiponectina, la cual fue la responsable de disminuir los parámetros bioquímicos principalmente de la glucosa, al parecer como resultado de provocar la sensibilización de la insulina, sin embargo, se requiere de estudios posteriores para corroborar esta hipótesis.

Por otro lado, en este trabajo también se observó la relación inversa en la concentración de TNF- α y la adiponectina, lo cual corrobora la capacidad anti-inflamatoria de esta AD. El aumento en la secreción de la adiponectina inhibe la secreción de TNF- α , uno de los principales mediadores del proceso inflamatorio, a través de la inhibición de la activación de NF- κ B, y la posible activación de la oxidación de los ácidos grasos y el estímulo a la expresión de moléculas transportadoras de los mismos, a través de la activación de la vía del receptor activado de peroxisoma proliferador alfa (PPAR- α), el cual regula el metabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos (Elissondo *et al.*, 2008). Lo anterior se traduce en una disminución tanto del proceso inflamatorio como de la concentración de triglicéridos circulantes, lo cual fue corroborado en este estudio, en donde se observó una disminución de este parámetro bioquímico en el grupo Cu-DM.

Con base en lo anterior y a los resultados obtenidos, proponemos que el extracto etanólico de *Calea urticifolia* actúa a través de los siguientes mecanismos:

El efecto anti-inflamatorio de la especie y su capacidad de inducir la secreción de adiponectina podrían estar correlacionados de manera indirecta, debido a que

posiblemente el extracto actúe a través de la inhibición de la expresión de NF- κ B. La inhibición de este factor de transcripción implica que exista una disminución de la secreción de citocinas proinflamatorias en el adipocito, lo que conduce a un aumento en la secreción de adiponectina y una disminución de la infiltración de monocitos hacia el TA (Weisberg *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2003; Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005; Bastarrachea *et al.*, 2007). Por otra parte, puede interactuar a nivel del receptor de moléculas quimioatrayentes de monocitos (CCR2), el cual es primordial en la disminución del proceso inflamatorio, pues su inhibición reduce el número de macrófagos en TA, incrementa la expresión de adiponectina y mejora la sensibilidad a la insulina (Bastarrachea *et al.*, 2007).

REFERENCIAS

- Abbas, A.K.; A.H. Lichtman; J.S. Pober. 2003. Inmunología celular y molecular. Cuarta edición. McGraw-Hill-Interamericana. España, 577p.
- Amin, K. A.; M. A. Nagy. 2009. Effect of carnitine and herbal mixture extract on obesity induced by high fat diet in rats. *Diabet Metabol Synd.* 1 (17). Disponible en: <http://www.dmsjournal.com/content/1/1/17>
- Antuna-Puente, B.; B. Feve; S. Fellahi; J.-P. Bastard. 2008. Adipokines: The missing link between insuline resistance and obesity. *Diabet Metabol.* 34: 2-11
- Bastard, J.-P.; M. Maachi; C. Lagathu; M. J. Kim; M. Caron; H. Vidal; J. Capeau; B. Feve. 2006. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 17(1): 4-12
- Bastarrachea, R. A.; J. C. López-Alvarenga; V. E. Bolado-García; J. Téllez-Mendoza; H. Laviada-Molina; A. G. Comuzzie. 2007. Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. *Gac Méd Mex.* 143(6): 505-512
- Buettner, R.; J. Schölmerich, L. C. Bollheimer. 2007. High-fat Diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obes.* 15(4): 798-808
- Cano, P.; D. P. Cardinali; M. J. Ríos-Lugo; M. P. Fernández-Mateos; C. F. Reyes-Toso; A. I. Esquifino. 2009. *Obes.* 17(10): 1866-1871
- Chen, B.; W.-Q. Liao; N. Xu; H. Xu; J.-Y. Wen; C.-A. Yu; X.-Y. Liu; C.-L. Li; S.-M. Zhao; W. Campbell. 2009. Adiponectin protects against cerebral ischemia-reperfusion injury through anti-inflammatory action. *Brain Res.* 1273: 129-137
- De Souza, C. T.; E. P. Araújo; P. O. Prada; M. J. A. Saad; A. C. Boschero; L. A. Velloso. 2005. Short-term inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α expression reverses diet-induced diabetes mellitus and hepatic steatosis in mice. *Diabet.* 48: 1860-1871
- Domínguez-Reyes, C. 2007. Adiponectina: El tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. *Rev Endocrinol Nut.* 15(3): 149-155

- Dourmashkin, J.T.; G-Q. Chang; E.C. Gayles; J.O. Hill; S.K. Fried; C. Julien; S.F. Leibowitz. 2005. Different forms of obesity as a function of diet composition. *Int J Obes.* 29:1368-1378
- Elissondo, N.; L. Gómez-Rosso; P. Maidana.; F. Brites. 2008. Adiponectina: una adipocitoquina con múltiples funciones protectoras. 42(1): *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 42(1): 17-33
- Fam., B. C.; M. J. Morris; M. J. Hansen; M. Kebede; S. Andrikopoulos; J. Proietto; A. W. Thorburn. 2007. Modulation of central leptin sensitivity and energy balance in a rat model of diet-induced obesity. *Diabet Obes. Met* 9: 840-852
- Guerre-Milo, M. 2004. Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabet Metabol.* 30: 13-9
- Guzmán G., P.; E. García-Chávez; J. Fortanelli M.; B.I. Juárez F. 2010a. Exploración etnobotánica de especies vegetales con propiedades anti-inflamatorias de la región *xi'iuy* de La Palma, municipio de Rayón, San Luis Potosí.
- Guzmán G., P.; E. García-Chávez; G.A. Soto P.; B.I. Juárez F. 2010b. Valoración del efecto anti-inflamatorio del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Hamelia patens* Jacq. en un modelo *in vivo*.
- Hoareau, L.; K. Bencharif; P. Rondeau; R. Murumalla; P. Ravanan; F. Tallet; P. Delarue; M. Cesari; R. Roche; F. Festy. 2010. Signaling pathways involved in LPS induced TNF alpha production in human adipocytes. *J Inflamm.* Disponible en: <http://www.journal.inflammation.com/content/7/1/1>
- Joussen, A.M.; V. Poulaki; N. Mitiades; B. Kirchhoff; K. Koizumi; S. Döhmen; A. P. Adamis. 2002. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs prevent early diabetic retinopathy via TNF- α suppression. *FASEB J.* Disponible en: <http://www.fasebj.org/cgi/doi/10.1096/fj.01-0707fje>
- Lassiter, T.L.; I.T. Ryde; E.A. MacKillop; K.K. Brown; E.D. Levin; F.J. Seidler; T.A. Slotkin. 2008. Exposure of neonatal rats to parathion elicits sex-selective reprogramming of metabolism and alters the response to a high fat diet in adulthood. *Environ Health Perspect.* 116:1456-1462
- Lee, I. S.; R. Choue. 2009. The differences in blood levels of lipids, adipokines, and proinflammatory cytokines among normal, overweight, and obese Korean Women. *Endocrinol.* 19(6): 267-270
- Matsuura, N.; M. Yamada; H. Suzuki; N. Hasegawa; C. Kurosaka; M. Ubukata; T. Tanaka; M. Iinuma. 2005. Inhibition of preadipocyte differentiation by germacranolides from *Calea urticifolia* in 3T3-L1 cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 69(12): 2470-2474
- Matysková, R.; L. Maletínská; J. Maixnerová; Z. Pirník; A. Kiss; B. Zelezná. 2007. Comparison of the obesity phenotypes related to monosodium glutamate effect on arcuate nucleus and/or the high fat diet feeding in C57Bl/6 and NMRI mice. *Physiol Res.* Pre-press article.

- Musri, M. M. 2004. Expresión de adiponectina y sus receptores en tejido adiposo. Regulación epigénica de la adipogénesis. Tesis doctoral. Doctora de Biología Celular en Medicina. Universitat de Barcelona. Barcelona, España. 127p.
- Pan, M.; Y.-L. Song; J.-M. Xu; H.-Z. Gan. 2006. Melatonin ameliorates nonalcoholic fatty liver induced by high-fat diet in rats. *J Pineal Res.* 41: 79-84
- Park, K.-O.; Y. Ito; T. Nagasawa; M.-R. Choi; N. Nishizawa. 2008. Effects of dietary Korean proso-millet protein on plasma adiponectin, HDL cholesterol, insulin levels, and gene expression in obese type 2 diabetic mice. *Biosci Biotechnol Biochem.* 72(11): 2918-2925
- Röckl, K. S. C.; C. A. Witczak; L. J. Goodyear. 2008. Diabetes, mitocondrias y ejercicio. *Rev Esp Cardiol Supl.* 8: 27C-34C
- Sánchez-Muñoz, F.; R. García-Macedo; F. Alarcón-Aguilar; M. Cruz. 2005. *Gac Méd Mex.* 141(6): 505-512
- Shojaie, M.; A. Sotoodah; G. Shafaie. 2009. Is adiponectin associated with acute myocardial infarction in Iranian non obese patients? *Lip Health Disease.* 8 (17). Disponible en: <http://www.lipidworld.com/content/8/1/17>
- Skop, V.; K. Kontrová; J. Zídková; V. Zídek. 2009. Adipocytokines: recently discovered fat tissue hormones. *Chem Listy.* 103(3): 187-192
- Téllez-Mendoza, J. 2005. Adiponectina y disfunción endotelial. *RESPYN. Edición Especial 16.* Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-16-2005/documentos/12.htm>
- Tilg, H.; A. R. Moschen. 2008. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* 14(3-4) 222-231
- Walsh, K. 2009. Adipokynes, miokynes and cardiovascular disease. *Circ J.* 73: 13-18
- Weisberg, S. P.; D. McCann; M. Desai; M. Rosenbaum; R. L. Leibel; A. W. Ferrante Jr. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 112(12): 1796-1808
- Xu, H.; G. T. Barnes; Q. Yang; G. Tan; D. Yang; C. J. Chou; J. Sole; A. Nichols; J. S. Ross; L. A. Tartaglia; H. Chen. 2003. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 112(12): 1821-1830
- Yang, B.; K. K. Brown; L. Chen; K. M. Carrick; L. G. Clifton; J. M. McNulty; D. A. Winegar; J. C. Strum; S. A. Stimpson; G. L. Pahl. 2004. Serum adiponectin as a biomarker for in vivo PPARgamma activation and PPARgamma agonist-induced efficacy on insulin sensitization/lipid lowering in rats. *BMC Pharmacol.* 4(23). Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2210/4/23>
- Yao, H.; H. Ling; H. Wang; L. Zhang; X. Yuang; Z. Xia. 2005. Gene expression of adiponectin and Adiponectin Receptor 1 in Type 2 diabetic rats and the relationship with the parameters of glucose and lipid metabolism. *J Huazhong Univ Sci Tech.* 25(3): 285-288

6. CONCLUSIONES GENERALES

Como resultado de la exploración etnobotánica, se identificaron 13 especies que la población emplea en el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios (como gastritis y contusiones) y de DM-II. Se seleccionaron las especies *Hamelia patens* Jacq. y *Calea urticifolia* (Mill.) DC., debido a que son las más relevantes localmente, y cuentan con menor información documental acerca de sus propiedades anti-inflamatorias, con la finalidad de corroborar su uso tradicional.

El efecto anti-inflamatorio de *H. patens* y *C. urticifolia* se corroboró en un modelo *in vivo* de inflamación, en el cual se evaluó el efecto del extracto etanólico de ambas especies en las dosis tradicionales (simples y duplicadas) que la población emplea en sus prácticas de herbolaria. Ambos extractos presentaron efecto anti-inflamatorio en ambas dosis, aunque la dosis doble del extracto de *C. urticifolia* presentó mejor efecto al inhibir la secreción de las citocinas proinflamatorias (CP) TNF- α e IL-1 β ; así como la dosis doble del extracto de *H. patens* presentó mejor efecto sobre la inhibición de la CP IL-6. Por lo tanto, esta evaluación indicó la veracidad del empleo de estas especies en el tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios. Aunque ambas especies mostraron actividad anti-inflamatoria, *C. urticifolia* presentó efectos terapéuticos en dosis menores, por lo que esta especie se seleccionó para estudios posteriores.

Aunque no se determinó el mecanismo mediante el cual *H. patens* y *C. urticifolia* ejercen acción anti-inflamatoria en el organismo, se propone que puede ser a través de la inhibición del factor de transcripción nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), responsable de la transcripción de genes para la secreción de las CP, y de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), implicada en la producción de eicosanoides proinflamatorios. Por lo que se deja para investigaciones posteriores la identificación de los mecanismos de acción y de los metabolitos secundarios, responsables del efecto anti-inflamatorio que presentaron ambas especies. También se recomienda corroborar el uso tradicional de las 11 especies identificadas en la exploración etnobotánica que no se seleccionaron, puesto que no carecen de importancia para las comunidades, y son fuente potencial para la identificación de nuevas alternativas terapéuticas.

Debido a que la DM-II es una enfermedad en aumento constante en el país, resulta importante encontrar nuevas alternativas no sólo para su tratamiento, sino para su prevención. Puesto que, previo al desarrollo de DM-II se encuentra una resistencia a la insulina, producto de un proceso inflamatorio en el tejido adiposo, es importante evaluar la capacidad de nuevos tratamientos con capacidad anti-inflamatoria, que puedan disminuir el proceso inflamatorio del tejido adiposo, lo que previene la resistencia a la insulina, y por ende, el desarrollo de DM-II.

De acuerdo con lo anterior, se corroboró el empleo de *C. urticifolia* para disminuir el proceso inflamatorio que se induce con la ingesta de una dieta rica en grasas. El incremento en la ingesta de grasas, aunado a diversos factores como el sedentarismo y la predisposición genética, ocasionan una acumulación de lípidos en el tejido adiposo, lo que

altera las concentraciones normales de glucosa, colesterol total y triglicéridos circulantes, así como aumenta la secreción de CP y de adiponectina (adipocina anti-inflamatoria).

Como resultado de la evaluación de *C. urticifolia* en un modelo *in vivo* de una dieta rica en grasas, se comprobó la utilidad de la administración del extracto en la disminución de la concentración sérica de glucosa, colesterol y triglicéridos; así como también se corroboró el efecto inhibitorio de la secreción de las citocinas TNF- α e IL-1 β en los grupos experimentales tratados con el extracto, y el aumento en la secreción de adiponectina en el grupo alimentado con la dieta rica en grasas y tratado con el extracto. Por lo tanto, se identificó que el empleo de *C. urticifolia* puede regular el proceso inflamatorio que se genera con la ingesta de una dieta rica en grasas, e inducir la secreción de adiponectina en el organismo.

En relación con lo anterior, *C. urticifolia* es una especie vegetal con potencial para ser utilizada como tratamiento preventivo en el desarrollo de la DM-II. Sin embargo, para corroborar este potencial, es necesario realizar trabajos de investigación posteriores, encaminados a identificar los mecanismos de acción mediante los cuales el extracto etanólico de *C. urticifolia* tiene la capacidad de actuar sobre el proceso inflamatorio que se origina en el tejido adiposo. Este trabajo abre las posibilidades hacia otros temas de investigación relacionados con esta especie y su capacidad potencial para la prevención de la resistencia a la insulina, y por ende, de la diabetes mellitus tipo II.

7. ANEXO I

MATERIAL COMPLEMENTARIO

Ejemplo de base de datos IMSS-Oportunidades

INFORMACION ACUMULADA 01 A LA 62 DE LA EPI																									
clave	Diagnostico	T. DELG.	REGION	TIPLANO	HRO 14	HRO 15	ZON I	ZON II	ZON III V.	ZON IV SAN	ZON V STA.	ZON VI RIO	ZON VI FRIE	HRO 41	HRO 44	CATIPANN	ZON VII	ZON VIII	ZON IX	ZON X CD.	ZON XI XILITL	ZON XII	MAZUNCHA	MODULOS	
	Diagnostico	0	0114	0115	0101	0102	0103	0104	0105	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106	0106
03	Abceso hepático ambiano	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
124	Accidentes de transporte en vehiculos con motor	115	56	0	33	3	5	6	7	2	0	59	0	53	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	0
02	Ambiasis intestinal	2,061	1,087	19	22	72	292	288	230	49	115	967	5	67	20	42	156	247	176	254	7				
S05.7	Amputación y alusión	68	30	6	9	3	4	2	1	1	4	37	4	16	6	2	2	0	6	1	1				
96	Anencefalia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A22	Antrax	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
04	Ascariasis	537	63	0	18	4	16	4	5	8	8	468	1	46	12	5	73	123	118	90	6				
54	Asma y estado asmático	318	58	13	26	3	5	2	1	2	6	255	137	28	11	2	36	1	29	11	5				
48	Bocio endémico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	Brucelosis, (+)	13	9	1	2	0	5	0	1	0	0	4	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
20	Candidiasis urogenital	4,011	1,713	4	24	174	294	418	252	238	309	2,283	25	80	335	219	455	386	305	478	15				
21	Chancro blando	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
113	Cirrosis hepática no alcohólica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	Cisticercosis, (+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
01	Cólera, (*+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H10.9	Conjuntivitis	2,649	1,602	14	117	142	200	109	410	346	264	960	88	85	113	111	253	72	155	83	87				
36	Conjuntivitis hemorrágica epidémica, (*+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	Conjuntivitis mucopurulenta	6	4	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B30.9	Conjuntivitis viral sin otra especificación	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S05	Contusión y magulladuras	3,145	1,616	525	491	101	144	55	55	100	145	1,524	502	558	50	38	136	80	106	54	5				
65	Defectos del tubo neural	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	Dengue clásico	231	12	1	0	7	0	3	0	0	1	219	16	12	8	42	13	3	104	21	0				
89	Dengue hemorrágico, (+)	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0

Formatos de entrevistas
ENTREVISTA SOBRE ENFERMEDADES

ENFERMEDAD	REMEDIOS QUE USA	PLANTAS QUE USA	PRINCIPAL PLANTA QUE USA	¿CÓMO CONOCIÓ ESTA PLANTA?
DIABETES				
OBESIDAD				
GOLPES				
TORCEDURAS				
HERIDAS, CORTADAS				
HINCHAZÓN				
DOLOR				

Nº de Encuesta: _____

Fecha: _____

Comunidad: _____

Nombre: _____

Edad: _____ años

ENTREVISTA SOBRE PLANTAS

PLANTA PARA:	OTRAS ENFERMEDADES QUE CURA	QUÉ PARTES DE LA PLANTA SE USAN PARA PREPARAR EL REMEDIO	PREPARACIÓN Y MODO DE USO DEL REMEDIO CON LA PLANTA (Forma de preparación, tiempos, cantidades, forma de uso del remedio, duración del mismo...)	DÓNDE Y CUÁNDO SE CONSIGUE LA PLANTA	OTROS USOS NO MEDICINALES DE ESTA PLANTA
DIABETES: _____					
OBESIDAD: _____					
GOLPES: _____					
TORCEDURAS: _____					
HERIDAS, CORTADAS: _____					
HINCHAZÓN: _____					
DOLOR: _____					

Nº de Encuesta: _____

Fecha: _____

Comunidad: _____

Nombre: _____ Edad: _____ años

8. ANEXO II

Evaluación de la dieta rica en grasas

Se evaluaron tres dietas diferentes (Cuadro 1) tomando en cuenta el contenido calórico de cada una, así como el aumento de peso, consumo de alimento y agua, y la concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos en sangre de los animales experimentales:

1. Alimento estándar de laboratorio Rodent Laboratory Chow 5001.
2. Alimento estándar de laboratorio Formulab Chow 5008.
3. Alimento 5008 Modificado (5008-M), preparado con 72.5% de alimento Formulab Chow 5008; 17.5% de manteca de cerdo y 10% de aceite de canola (De Souza *et al.*, 2005; Fam *et al.*, 2006; Pan *et al.*, 2006; Buettner *et al.*, 2007; Matyskova *et al.*, 2007).

Se tomaron datos de peso de los animales cada tercer día, consumo diario de alimento y agua, y se obtuvieron muestras de sangre al final del experimento para determinar la concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos en sangre.

Cuadro 1. Contenido calórico de las cuatro dietas evaluadas.

ALIMENTO	CONTENIDO CALÓRICO (Kcal/100g)	GRASAS (%)*	CARBOHIDRATOS (%)*	PROTEÍNAS (%)*
Rodent Laboratory Chow 5001	407	13.496	57.996	28.507
Formulab Chow 5008	415	16.71	56.441	26.849
5008 Modificado	547.44	54.3	31.02	14.56
*Porcentaje energético que aporta del contenido calórico total.				

Resultados

En lo referente al contenido calórico de las tres dietas evaluadas (Cuadro 1) la dieta denominada 5008 Modificado (5008-M) tiene un mayor contenido calórico (547.44Kcal), del cual, el 54.3% proviene de las grasas, a diferencia de las otras dos dietas, cuya energía proveniente de las grasas no sobrepasa el 17%.

La Figura 1 muestra la ganancia de peso de cada una de las dietas. A lo largo de la evaluación de las dietas, los grupos con las dietas 5001 y 5008 no mostraron diferencia significativa ($p>0.05$). Sin embargo, a partir del día 60 de iniciada la dieta, el grupo con el alimento 5008-M presentó diferencia significativa en la ganancia de peso con respecto a los otros dos grupos ($p<0.001$), mostrando un incremento en la ganancia de peso del 14.3% con respecto al grupo con la dieta 5008, y del 16.75% con respecto al grupo con la dieta 5001.

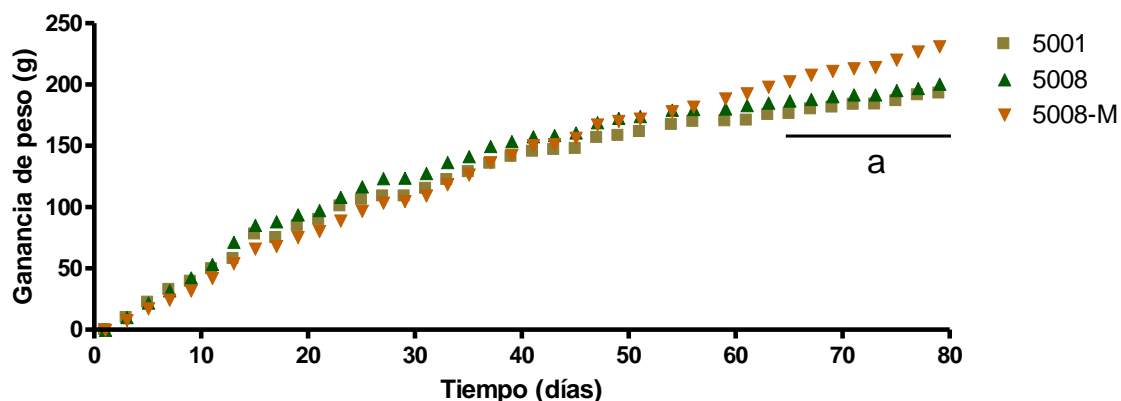


Figura 1. Ganancia de peso. El aumento de peso de cada uno de los animales se midió cada tercer día durante toda la duración del tratamiento, 81 días. Los valores representan la media \pm EE; $n=5$ por tratamiento. $a= p<0.001$ Vs 5008-M.

La Figura 2 muestra el consumo de alimento de los animales de cada dieta. El grupo alimentado con la dieta rica en grasas, 5008-M, consume en promedio 14.54% menos cantidad de alimento que los grupos alimentados con las dietas de laboratorio 5001 y 5008 ($p<0.001$). No hubo diferencia significativa en el consumo de alimento entre los grupos alimentados con las dietas 5001 y 5008 ($p>0.05$).

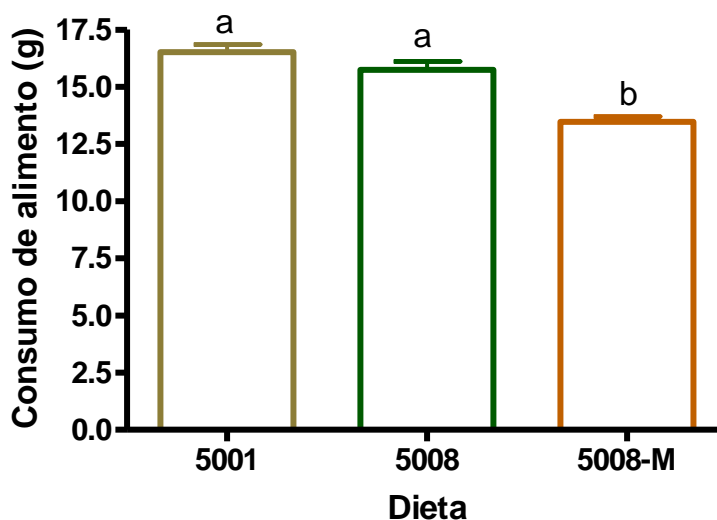


Figura 2. Consumo de alimento. Se midió diariamente el consumo de alimento de cada uno de los animales, durante toda la duración del tratamiento, 81 días. Los valores representan la media \pm EE; $n=5$ por tratamiento.

En la Figura 3 se muestra el consumo de agua de los animales de cada una de las dietas. El grupo alimentado con la dieta rica en grasas consume 28.4% menos agua que el grupo alimentado con la dieta de laboratorio 5001 ($p<0.001$), y 19.6% menos que el grupo alimentado con la dieta de laboratorio 5008 ($p<0.001$). Mientras que el grupo alimentado con la dieta 5008 consume tan sólo 10.9% menos agua que el grupo alimentado con la dieta 5001.

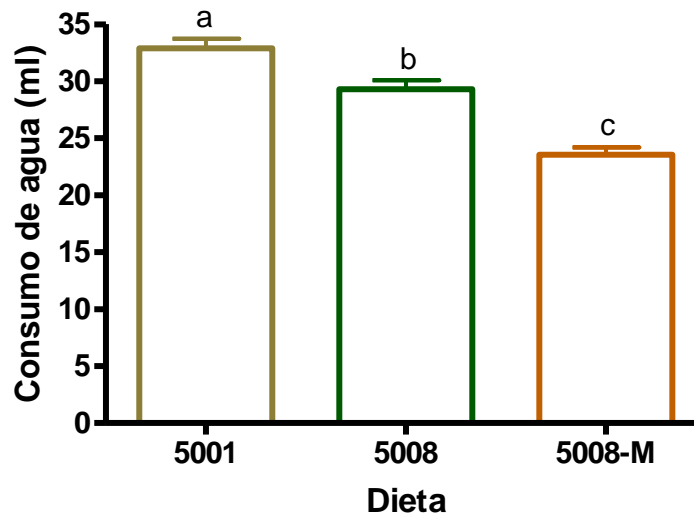


Figura 3. Consumo de alimento. Se midió diariamente el consumo de alimento de cada uno de los animales durante todo el tiempo de tratamiento, 80 días. Los valores representan la media \pm EE; $n=5$ por tratamiento.

En lo referente a la concentración de glucosa en sangre, después de 81 días de la alimentación con cada una de las dietas, los grupos alimentados con las dietas 5001 y 5008 no presentaron diferencia significativa ($p>0.05$), sin embargo, el grupo alimentado con la dieta rica en grasas mostró un incremento del 25.6% en la concentración de glucosa con respecto a las otras dietas (Cuadro 2), alcanzando una concentración promedio de 141.5 mg/dl, mientras que los grupos de las dietas 5001 y 5008 alcanzaron una concentración promedio de 103.8 y 106.8 mg/dl, respectivamente.

En cuanto a la concentración de colesterol alcanzada por los diferentes grupos a los 81 días de alimentación, el grupo con la dieta 5001 alcanzó una concentración promedio de 83 mg/dl, mientras que el grupo de la dieta 5008 mostró un incremento del 9.5% con respecto al grupo de la dieta 5001 ($p<0.01$), con una concentración promedio de 91.71 mg/dl. Mientras tanto, el grupo con la dieta 5008-M alcanzó una concentración promedio de 106.6 mg/dl, presentando un incremento del 14% con respecto al grupo de la dieta 5008, y del 22.1% con respecto al grupo de la dieta 5001 (Cuadro 2).

Al final de la evaluación de las dietas, el grupo alimentado con la dieta 5001 llegó a una concentración promedio de triglicéridos de 92.25 mg/dl, mientras que el grupo de la dieta 5008 alcanzó una concentración promedio de 116.2 mg/dl, lo que representa un aumento del 20.6% con respecto al primero ($p<0.001$). El grupo alimentado con la dieta rica en grasas mostró un aumento en la concentración de triglicéridos del 22.7% con respecto al grupo de la dieta 5008, y del 38.6% con respecto al grupo de la dieta 5001 ($p<0.001$), alcanzando una concentración promedio de 150.3 mg/dl (Cuadro 2).

Cuadro 2. Concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos al final de la evaluación de las dietas.

Dieta	Glucosa (mg/dl)	Colesterol (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)
5001	103.8 ± 4.35	83 ± 2.55	92.25 ± 4.99
5008	106.8 ± 8.07	91.71 ± 5.44 ^b	116.2 ± 3.96 ^b
5008-M	141.5 ± 10.28 ^a	106.6 ± 2.41 ^a	150.3 ± 4.27 ^a
^a p<0.001 vs 5008; ^b p<0.01 vs 5001; n=5 por tratamiento			

REFERENCIAS

- Buettner, R.; J. Schölmerich, L. C. Bollheimer. 2007. High-fat Diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obes.* 15(4): 798-808
- De Souza, C. T.; E. P. Araújo; P. O. Prada; M. J. A. Saad; A. C. Boschero; L. A. Velloso. 2005. Short-term inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α expression reverses diet-induced diabetes mellitus and hepatic steatosis in mice. *Diabet.* 48: 1860-1871
- Fam., B. C.; M. J. Morris; M. J. Hansen; M. Kebede; S. Andrikopoulos; J. Proietto; A. W. Thorburn. 2007. Modulation of central leptin sensitivity and energy balance in a rat model of diet-induced obesity. *Diabet Obes Met* 9: 840-852
- Matysková, R.; L. Maletínská; J. Maixnerová; Z. Pirník; A. Kiss; B. Zelezná. 2007. Comparison of the obesity phenotypes related to monosodium glutamate effect on arcuate nucleus and/or the high fat diet feeding in C57Bl/6 and NMRI mice. *Physiol Res.* Pre-press article.
- Pan, M.; Y.-L. Song; J.-M. Xu; H.-Z. Gan. 2006. Melatonin ameliorates nonalcoholic fatty liver induced by high-fat diet in rats. *J Pineal Res.* 41: 79-84

9. ANEXO III



CE **GLUCOSE -LQ**

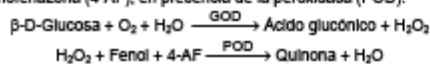
Glucosa
GOD-POD. Líquido

Determinación cuantitativa de glucosa IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido gluconico. El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol, 4-aminofenazona (4-AF), en presencia de la peroxidasa (POD):



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLINICO

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células. La diabetes mellitus es una enfermedad que se manifiesta por una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina^{1,3,4}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	TRIS pH 7,4	92 mmol/L
	Fenol	0,3 mmol/L
	Glucosa oxidasa (GOD)	15000 U/L
	Peroxidasa (POD)	1000 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	2,6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Patrón primario acuoso de Glucosa 100 mg/dL	

PREPARACION

El reactivo y el calibrador están listos para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

GLUCOSE CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm $\geq 0,32$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma, libre de hemólisis⁵.

El suero debe separarse lo antes posible del coágulo.

Estabilidad de la muestra: La glucosa en suero o plasma es estable 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 505 nm (490-550)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (mg/dL) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 10 minutos a 37°C o 30 min a temperatura ambiente (15-25°C).

- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CALCULOS

$$\frac{(A)_{\text{Muestra}}}{(A)_{\text{Patrón}}} \times 100 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de glucosa en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0555= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINREACT H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:
60 - 110 mg/dL \approx 3,33 - 6,10 mmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 1 mg/dL hasta el límite de linealidad 500 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intra serie (n=20)		Inter serie (n=20)	
Media (mg/dL)	94,9	238	96,6	246
SD	1,99	4,11	3,04	5,00
CV (%)	2,10	1,73	3,09	2,03

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0035 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0,9929.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9901x + 1,0515.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con hemoglobina hasta 19 g/L y bilirrubina hasta 100 mg/L¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la glucosa^{1,4}.

NOTAS

- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

- Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACION

Ref: 41010	2 x 50 mL
Ref: 41011	2 x 250 mL
Ref: 41012	2 x 100 mL
Ref: 41013	1 x 1000 mL



IMPORTADORES EXCLUSIVOS: LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.
Colina de las Terras 805 Franc. Bulevar de Neocatepan Edo. de México C.P. 89140
TEL: 01 (56) 9390-8772 LADA SIN COSTO 01 800 503 SPIN (7746)
www.spinreact.com.mx info@spinreact.com.mx



CHOLESTEROL -LQ

Coolesterol

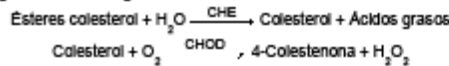
CHOD-POD. Líquido

Determinación cuantitativa de coolesterol IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El coolesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



$$2 \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fenol} + 4\text{-Aminofenazona} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinonimina} + 4\text{H}_2\text{O}$$

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de coolesterol presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El coolesterol es una sustancia grasa presente en todas las células del organismo. El hígado produce naturalmente todo el coolesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. La determinación del coolesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. El aumento del nivel de coolesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular^{3,4}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
	Fenol	25 mmol/L
	Coolesterol esterasa (CHE)	1000 U/L
	Coolesterol oxidasa (CHOD)	300 U/L
	Peroxidasa (POD)	650 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,4 mmol/L
CHOLESTEROL CAL	Patrón primario acuoso de Coolesterol	

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm \geq 0,26.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRASSuero o plasma^{1,2}. Estabilidad de la muestra 7 días a 2-8°C y 3 meses si se mantiene la muestra congelada (-20°C).**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 505 nm (500-550).
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura 37°C /15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1-2) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

CÁLCULOS

$$\frac{(A)_{\text{Muestra}}}{(A)_{\text{Patrón}}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL de coolesterol en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0258= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los Instrumentos, los reactivos y la calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIAEvaluación del riesgo^{5,6}:

Menos de 200 mg/dL	Normal
200-239 mg/dL	Moderado
240 o más	Alto

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0,113 mg/dL hasta el límite de linealidad 750 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Preclación:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	99.789	185.309	96.346	184.962
SD (mg/dL)	1.213	1.405	4.196	12.773
CV (%)	1.216	0.758	4.355	6.906

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0015 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,9968.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0.9797x + 2.2803.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias de hemoglobina hasta 5 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del Coolesterol^{3,4}.

NOTAS

- CHOLESTEROL CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- LCF (Lipid Clearing Factor) está integrado en el reactivo.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
- Melartini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1976; 24 (12): 2161-2166.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1996.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 41020	Cont.	2 x 50 mL
Ref: 41022		2 x 100 mL
Ref: 41021		2 x 250 mL
Ref: 41019		1 x 1000 mL



IMPORTADORES EXCLUSIVOS: LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.
Colina de las Termas #35 Praec. Boulevardes Naucalpan Edo. de México C.P. 53140
TEL: 01 (55) 5360-6772 LADA 500 COSTO 01 800 500 SPIN (3744)
www.spinreact.com.mx info@spinreact.com.mx



TRIGLYCERIDES -LQ

Triglicéridos

GPO-POD. Líquido

Determinación cuantitativa de triglicéridos IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

Los triglicéridos incubados con lipoproteína lipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerol fosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrogeno (H₂O₂) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLINICO

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula. Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre.

Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos.

Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación^{4,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
	p-Clorofenol	2 mmol/L
	Lipoproteína lipasa (LPL)	150000 U/L
	Glicerol quinasa (GK)	500 U/L
	Glicerol-3-oxidasa (GPO)	3500 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
	Peroxidasa	440 U/L

TRIGLYCERIDES CAL Calibrador primario de Triglicéridos 200 mg/dL

PREPARACION

El reactivo y el calibrador están listos para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

TRIGLYCERIDES CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Deterioro de los reactivos

La presencia de turbidez indica contaminación del reactivo.

Absorbancias (A) Variaciones en las lecturas de Blancos de reactivos y/o Calibradores, indican contaminación o deterioro.

del Blanco a 505 nm \approx 0,40.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRASSuero y plasma¹.

Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 505 (490-550) nm
 - Cubeta: 1 cm paso de luz
 - Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Muestra) (µL)	-	10	-
Muestra (µL)	-	-	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 mn. a 15-25°C.

5. Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CALCULOS

$$\frac{(A)_{\text{Muestra}}}{(A)_{\text{Patrón}}} \times 200 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de triglicéridos en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210)

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Hombres: 40 - 160 mg/dL

Mujeres: 35 - 165 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 5,85 mg/dL hasta el límite de linealidad 1000 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1:2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	123	205	124	204
SD	3,08	1,63	4,89	4,26
CV (%)	2,49	0,79	3,92	2,09

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0011 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina < 170 µmol/L, hemoglobina < 10 g/L².

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de los triglicéridos^{4,5}.

NOTAS

- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

- Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
- Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burks A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACION

Ref: 41030		1 x 50 mL
Ref: 41031	Cont.	1 x 150 mL
Ref: 41032		1 x 100 mL
Ref: 41033		1 x 500 mL



IMPORTADORES EXCLUSIVOS: LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.
 Colina de las Termas #35 Fracc. Boulevard Naucalpan Edo. de México C.P. 53140
 TEL: 01 (55) 5360-6772 LADA 50 COSTO 01 800 536 500 (7*46)
 www.spinreact.com.mx info@spinreact.com.mx

10. REFERENCIAS DE LA PARTE INTRODUCTORIA

- ADA, American Diabetes Association and National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases, 2002. The prevention or delay of type 2 diabetes. *Diabet Care*. 25(4): 742 – 749.
- Andrade – Cetto, A.; M. Heinrich. 2005. Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol*. 99(3):325 – 348.
- Antuna-Puente, B.; B. Feve; S. Fellahi; J.-P. Bastard. 2008. Adipokines: The missing link between insuline resistance and obesity. *Diabet Metabol*. 34: 2-11
- Bastarrachea, R. A.; J. C. López-Alvarenga; V. E. Bolado-García; J. Téllez-Mendoza; H. Laviada-Molina; A. G. Comuzzie. 2007. Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. *Gac Méd Mex*. 143(6): 505-512
- Bermúdez, A.; M.A. Oliveira Miranda; D. Velázquez., 2005. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*. Ago 30 (008): 453-459.
- Carrillo – Rosario, T.; G. Moreno. 2006. Importancia de las plantas medicinales en el autocuidado de la salud en tres caseríos de Santa Ana Trujillo, Venezuela. *Revista de la Facultad de Farmacia*. 48 (2): 21 – 28.
- Chemin B., H. (1984). *Los pames septentrionales de San Luis Potosí*. Instituto Nacional Indigenista. Serie de investigaciones sociales. Colección Número 13. México. 249p.
- Domínguez-Reyes, C. 2007. Adiponectina: El tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. *Rev Endocrinol Nut* 15(3): 149-155
- Elissondo, N.; L. Gómez-Rosso; P. Maidana.; F. Brites. 2008. Adiponectina: una adipocitoquina con múltiples funciones protectoras. 42(1): *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 42(1): 17-33
- Estrada L., E. 1986. *Jardín botánico de plantas medicinales Maximino Martínez (1888 – 1964)*. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. México. 41p.
- Hoareau, L.; K. Bencharif; P. Rondeau; R. Murumalla; P. Ravanan; F. Tallet; P. Delarue; M. Cesari; R. Roche; F. Festy. 2010. Signaling pathways involved in LPS induced TNF alpha production in human adipocytes. *J Inflamm*. Disponible en: <http://www.journal.inflammation.com/content/7/1/1>
- Joussen, A.M.; V. Poulaki; N. Mitiades; B. Kirchhoff; K. Koizumi; S. Döhmen; A. P. Adamis. 2002. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs prevent early diabetic retinopathy via TNF- α suppression. *FASEB J*. Disponible en: <http://www.fasebj.org/cgi/doi/10.1096/fj.01-0707fje>
- Mendoza C., G.; R. Lugo P.; H. Tehuacatl C. 2002. *La farmacia viviente*. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Programa Universitario de Medicina Tradicional y Terapéutica Naturista. Diciembre, México. 289p.

- Musri, M. M. 2004. Expresión de adiponectina y sus receptores en tejido adiposo. Regulación epigénica de la adipogénesis. Tesis doctoral. Doctora de Biología Celular en Medicina. Universitat de Barcelona. Barcelona, España. 127p.
- Sánchez – Recalde, A.; J. C. Kaski. 2001. Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura. *Rev Esp Cardiol.* 54 (06): 751 – 763.
- Sánchez-Muñoz, F.; R. García-Macedo; F. Alarcón-Aguilar; M. Cruz. 2005. *Gac Méd Mex.* 141(6): 505-512
- SSA. (2005). Estadísticas de tasa de mortalidad por entidad federativa, y principales causas de mortalidad general a nivel nacional. México.
- Tilg, H.; A. R. Moschen. 2008. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* 14(3-4) 222-231
- Van der Sande, M. B. A., G. E. L Walraven; P.J.M Milligan; W.A.S. Banya; S.M. Ceesay; O. A. Nyan; K. P. W. J. McAdam. 2001. Antecedentes familiares: una oportunidad para intervenir precozmente y mejorar el control de la hipertensión, la obesidad y la diabetes. *Bull W H O*, 79(4): 321 – 328.
- Weisberg, S. P.; D. McCann; M. Desai; M. Rosenbaum; R. L. Leibel; A. W. Ferrante Jr. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 112(12): 1796-1808
- Xu, H.; G. T. Barnes; Q. Yang; G. Tan; D. Yang; C. J. Chou; J. Sole; A. Nichols; J. S. Ross; L. A. Tartaglia; H. Chen. 2003. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 112(12): 1821-1830