

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



**“EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA Y EL EFECTO
ANALGÉSICO DE LOS EXTRACTOS DE LA SUMIDAD FLORIDA
DE *Coreopsis fasciculata* (puki) EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA 2018”**

Tesis presentada por las bachilleres:

Aguilar Gonzales, Paloma

Rosas Vilca Janeth, Teresa

**Para optar el Título Profesional de
Químico-Farmacéutica**

Asesor: Dra. López Valencia, Yenny

AREQUIPA – PERÚ

2018

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 20170000016110

N° Trámite en Fac. 1705-2017

Fecha 31-03-2017

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL


DE: AGUILAR GONZALES, Paloma
ROSAS VILCA, Janeth Teresa

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"EVALUACION DEL EFECTO ANALGESICO Y LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS DE LA SUMIDAD FLORIDA DE *Coreopsis fasciculata* o "puki" EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION. AREQUIPA 2016"

DICTAMINADORES: 1) Dra. Angélica Corzo Salas 2) Q. F. Fernando Torres Vela

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por las recurrentes, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: "EVALUACION DEL EFECTO ANALGESICO Y LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS DE *Coreopsis fasciculata* - "puki" EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION", y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad
Atentamente

Firmas:  (Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha 18/4/2017

ASESOR: Dra. Yenny López Valencia

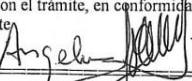
DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación se ha asesorado el presente Trabajo de Investigación y después de efectuadas las observaciones, considero que el título debe cambiar a: "EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA Y EL EFECTO ANALGESICO DE LOS EXTRACTOS DE LA SUMIDAD FLORIDA DE *Coreopsis fasciculata* o "puki" EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION. AREQUIPA 2017" y luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes considero se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.
Atentamente

Firma  Fecha 02/11/17

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Dr. José Villanueva Salas
- 2) Mgter. Angélica Corzo Salas
- 3) Q. F. Fernando Torres Vela


DICTAMEN DE BORRADOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por la recurrente, debiendo cambiar el título a: "EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA Y EL EFECTO ANALGESICO DE LOS EXTRACTOS DE LA SUMIDAD FLORIDA DE *Coreopsis fasciculata* (Puki) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION. AREQUIPA 2018", y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que el presente trabajo de investigación se encuentra APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.
Atentamente

Firma  (Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha 9/5/2018

JURADOS: Presidente Dr. José Villanueva Salas
Vocal Mgter. Angélica Corzo Salas
Secretario Q. F. Fernando Torres Vela

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 07/06/18 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)


DECANO
15/05/18

DEDICATORIAS

A Dios por haberme dado fuerza y
guiado a lo largo de este camino; dándome
la fortaleza, tolerancia para afrontar los diversos
retos que se me presentaron.

A mis hermanos Jerson y Jesús
quienes con sus palabras de aliento
y buenos deseos me brindan su apoyo
incondicional a seguir adelante
con mis retos y sueños.

A mi padres Felipe y Margarita por todo
el esfuerzo y sacrificio por ser un ejemplo
a seguir adelante contra adversidades y poder
lograr todos mis objetivos. Sin ustedes hoy en día
no hubiera logrado mis metas obtenidas.
Gracias por todo el amor, la comprensión el apoyo
incondicional y la confianza en cada
momento de mi vida todo esto es para ustedes.

Con cariño dedico a mis seres queridos,
por motivarme y darme la mano,
porque creyeron en mí, brindándome
su apoyo, gracias a ustedes, hoy puedo
ver alcanzada una de mis metas.

JANETH TERESA

Todo mi trabajo de tesis realizado se lo dedico y agradezco a Dios que me dio la fuerza y fe para creer lo que me parecía imposible terminar.

A mi mamá Yanina por todo el esfuerzo y sacrificio para brindarme todo el amor, la comprensión el apoyo incondicional y la confianza en cada momento de mi vida y sobre todo en mis estudios universitarios, todo esto es para ti porque eres y serás la mejor madre del mundo.

A mis hermanas por hacerme reír con sus ocurrencias por su ayuda moral y su preocupación por mi día a día.

En especial a mi **esposo Julio** y mi **hijita Cayetana**, por cada día darme la felicidad de estar a mi lado y su apoyo incondicional en el trayecto de toda la tesis por siempre estar ahí constantemente y ayudarme en la búsqueda de nuestra planta en estudio.

PALOMA AGUILAR

AGRADECIMIENTOS

Nos gustaría que estas líneas sirvieran para expresar nuestros más profundos y sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo

Dra. Yenny una gran persona y gran asesor nuestro especial agradecimiento por el gran apoyo que nos brindó y por todos sus consejos que nos sirvieron para realizar y culminar este trabajo.

Especial reconocimiento merece el interés mostrado por mi trabajo y las sugerencias recibidas del Dr. José Villanueva Salas sus sabios consejos, su ayuda incondicional y experiencia nos dieron la clave para culminar esta meta de manera satisfactoria, gracias por su valiosa participación en nuestra formación profesional.

Mgter. Angelica Corzo Salas con la que nos encontramos deuda por el ánimo infundido y la confianza en nosotros depositada, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de estos años.

También agradecerle por sus consejos y la ayuda recibida al Q.F. Fernando Torres Vela por su participación incondicional que nos brindó desde el comienzo para la realización de este trabajo.

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros del Departamento de Farmacia y Bioquímica, Doctores del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica Por sus enseñanzas y consejos que nos sirvieron en toda nuestra formación profesional.

A Dios, porque siempre estuvo presente guiándonos y dándonos la fuerza que necesitamos en todo el camino.

Janeth y paloma

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	
OBJETIVOS	
HIPÓTESIS	
CAPITULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1 <i>Coreopsis fasciculata</i> (PUKI)	1
1.1.1 Nombre científico	1
1.1.2 Nombres comunes	1
1.1.3 Descripción botánica	1
1.1.4 Distribución	2
1.1.5 Usos medicinales	2
1.2 DOLOR	2
1.2.1 Dimensiones del dolor	3
1.2.2 Finalidad del dolor	4
1.2.3 Características de la sensación dolorosa.....	4
1.2.4 Medida del dolor.....	4
1.2.5 Intensidad y umbral del dolor.....	5
1.2.6 Tipos de dolor.....	6
1.2.7 Hiperalgesia y alodinia	8
1.2.8 Rutas de proyección para el dolor	10
1.2.9 Modulación endógena del dolor	11
1.2.10 Tratamiento farmacológico del dolor	12
1.2.11 Tratamientos físicos.....	16
1.2.12 Terapias complementarias y alternativas.....	17
1.3 TRAMADOL	17
1.3.1 Mecanismo de acción	17
1.3.2 Usos terapéuticos.....	18
1.3.3 Farmacocinética.....	18
1.3.4 Efectos adversos	18

1.3.5	Interacciones	18
1.4	ácido acetilsalicílico	18
1.4.1	Mecanismo de acción	18
1.4.2	Acciones farmacológicas	19
1.4.3	Usos terapéuticos	22
1.4.4	Farmacocinética.....	22
1.4.5	Efectos adversos	23
1.4.6	Toxicidad	25
1.5	TOXICIDAD AGUDA DE PLANTAS MEDICINALES	25
1.5.1	Introducción.....	25
1.5.2	Toxicidad gastrointestinal	27
1.5.3	Toxicidad sobre el sistema cardiovascular	28
1.5.4	Síndrome anticolinérgico.....	29
1.5.5	Síndrome nicotínico.....	30
1.5.6	Toxicidad por cianuro.....	31
CAPITULO II.....		32
MATERIALES Y MÉTODOS.....		32
2.1	Tipo DE INVESTIGACIÓN	32
2.2	ámbito.....	32
2.3	Temporalidad.....	32
2.4	diseño DE INVESTIGACIÓN	32
2.5	POBLACIÓN Y MUESTRA	32
2.5.1	Población	32
2.5.2	Muestra.....	33
2.6	MATERIALES.....	33
2.6.1	Material de vidrio	33
2.6.2	Equipos de laboratorio.....	33
2.6.3	Reactivos	34
2.6.4	Otros materiales.....	34
2.7	MÉTODOS.....	35
2.7.1	Preparación de la droga	35
2.7.2	Obtención del extracto de puki.....	36
2.7.3	Cromatografía en capa fina.....	38

2.7.4	Evaluación del efecto analgésico.....	40
2.7.5	Evaluación de la toxicidad aguda, DL50.....	45
2.7.6	Métodos estadísticos.....	47
3	CAPITULO III.....	49
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
3.1	Obtención del extracto de puki.....	49
3.2	Ensayo fitoquímico preliminar.....	50
3.3.	EVALUACIÓN de la ACTIVIDAD ANALGÉSICA.....	52
3.2.1	Evaluación analgésica según el test de Formalina.....	53
3.2.2	Evaluación analgésica según el foco calorífico.....	62
3.4.	Evaluación de la toxicidad del extracto de puki.....	68
	CONCLUSIONES.....	74
	SUGERENCIAS.....	76
	BIBLIOGRAFÍA.....	77
	ANEXOS.....	81
	ANEXO N° 1: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN.....	82
	ANEXO N° 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS TOXICIDAD AGUDA.....	85
	ANEXO N° 3: CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Coreopsis fasciculata (Puki).....	1
Figura 2. Tramadol	17
Figura 3. Ácido Acetilsalicílico.....	19
Figura 4. Recolección de Coreopsis fasciculata (Puki)	35
Figura 5. Extracción mediante Soxhlet de Coreopsis fasciculata (Puki).....	37
Figura 6. Estimulación Doloroso Químico.....	43
Figura 7. Estimulación Dolorosa Térmica.....	44
Figura 8. Administración de la Dosis Tóxica.....	46
Figura 9. Evaluación de toxicidad aguda.....	47
Figura 10. Seguimiento de la evaluación toxica aguda en ratones.....	47
Figura 11. Identificación general.....	50
Figura 12. Identificación de terpenos	51
Figura 13. Identificación de flavonoides	51
Figura 14. Identificación de taninos	52
Figura 15. Gráfico de la fase aguda 0-5 min según el test de formalina.	57
Figura 16. Gráfico de la fase Crónica de 15-30 min según el Test de Formalina.	60
Figura 17. Evaluación en el foco calorífico.....	62
Figura 18. Grafico del Tiempo de Retirada de la Cola según el Test de Foco Calorífico...64	

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1 RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION SEGÚN TIPO DE DISOLVENTE	49
TABLA N° 2 IDENTIFICACIÓN Y PESOS CORPORALES DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	53
TABLA N° 3 GRUPOS EXPERIMENTALES Y DOSIS ADMINISTRADA SEGÚN PESO CORPORAL PARA EL TEST DE FORMALINA	54
TABLA N° 4 EFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY DE LA PRUEBA PILOTO, MÉTODO FOCO CALORÍFICO	55
TABLA N° 5 EFECTO ANALGÉSICO: DESCRIPCION DE LA FASE AGUDA 0-5 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA	56
TABLA N° 6 EFECTO ANALGÉSICO: ANOVA DE UN FACTOR DE LA FASE AGUDA 0-5 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA	58
TABLA N° 7 EFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY DE LA FASE AGUDA 0-5 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA	58
TABLA N° 8 EFECTO ANALGÉSICO: DESCRIPCION DE LA FASE CRÓNICA 15-30 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA	59
TABLA N° 9 EFECTO ANALGÉSICO: ANOVA DE UN FACTOR DE LA FASE CRÓNICA 15-30 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA	61
TABLA N° 10 EFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY DE LA FASE CRÓNICA 15-30 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA	61
TABLA N° 11 GRUPOS EXPERIMENTALES Y DOSIS ADMINISTRADA SEGÚN PESO CORPORAL PARA EL TEST DE FOCO CALORÍFICO	63
TABLA N° 12 EFECTO ANALGÉSICO: DESCRIPCION DEL TIEMPO DE RETIRADA DE LA COLA EN SEG SEGÚN EL TEST DE FOCO CALORÍFICO	64
TABLA N° 13 EFECTO ANALGÉSICO: CONTRASTES MULTIVARIADOS PARA EL TEST DE FOCO CALORÍFICO	65

TABLA N° 14 EFECTO ANALGÉSICO: PRUEBA DE ESFERICIDAD DE MAUCHLY PARA EL TEST DE FOCO CALORÍFICO	66
TABLA N° 15 EFECTO ANALGÉSICO: ESTADISTICOS UNIVARIADOS DE LOS EFECTOS INTRA-SUJETOS PARA EL TEST DE FOCO CALORÍFICO	66
TABLA N° 16 EFECTO ANALGÉSICO: ANOVA DE DOS FACTORES PARA EL EFECTO INTERSUJETOS DEL TEST DE FOCO CALORÍFICO	67
TABLA N° 17 EFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY PARA EL EFECTO INTERSUJETOS DEL TEST DE FOCO CALORÍFICO	67
TABLA N° 18 ETAPAS EXPERIMENTALES Y DOSIS ADMINISTRADA SEGÚN PESO CORPORAL PARA LA EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA.....	69
TABLA N° 19 EVALUACION DE SIGNOS DE TOXICIDAD PARA LAS TRES ETAPAS EXPERIMENTALES DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA.....	70
TABLA N° 20 PESOS CORPORALES (G) AL INICIO Y FINAL DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA	71
TABLA N° 21 DESCRIPCION ESTADISTICA DE LOS PESOS CORPORALES (G) AL INICIO Y FINAL DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA	72
TABLA N° 22 PREUBA T PARA MUESTRAS RELACIONADAS SEGÚN PESOS CORPORALES (G) AL INICIO Y FINAL DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA	72

RESUMEN

El presente estudio experimental se llevó a cabo en el bioterio y Laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Católica de Santa María, y tuvo como principales objetivos, en primer lugar evaluar la toxicidad aguda y el efecto analgésico de los extractos de la sumidad florida de *Coreopsis fasciculata* (Puki) comúnmente conocida como puki, en animales de experimentación.

La investigación inicio con la obtención de tres extractos, que difieren por la naturaleza del disolvente utilizado, los tres se obtuvieron por el método de destilación con equipo Soxhlet. Los disolventes utilizados fueron alcohol etílico, cloroformo y éter de petróleo, y los rendimientos medios hallados para cada uno fue de $30.17\pm$, $14.43\pm$ y $7.79\pm$ D.S% respectivamente.

Ya con los extractos logrados se realizó una prueba piloto a fin de determinar cuál de ellos presenta mayor eficacia analgésica preliminar, siendo el extracto etanólico el que presenta mayor efecto. Fue este extracto al que se le realizó un estudio fitoquímico preliminar, revelándose la presencia de sustancias terpenicas, saponinas, esteroides, flavonoides y taninos.

La evaluación del efecto analgésico se realizó mediante dos modelos experimentales que utilizan animales, el test de formalina o método químico, y el de foco calorífico o método térmico. Para ello se marcó e identifico a cada animal de experimentación con el objetivo de escoger o constituir los grupos al azar, primero se hizo el test de formalina y luego con los mismos animales, se hizo una nueva distribución aleatoria para el test de foco calorífico. En ambos métodos se constituyó cinco grupos: a) grupo control negativo al que se administró suero fisiológico 0.9%; b) grupo de dosis mínima al que se administró 200 mg/Kg de extracto etanólico de puki; c) grupo de dosis media al que se administró 400 mg/Kg de extracto etanólico de puki; d) grupo de dosis máxima al que se administró 800 mg/Kg de extracto etanólico de puki; y e) grupo control positivo que se administró para el método del test de formalina tramadol y para el test de foco calorífico ácido acetilsalicílico. Todos los grupos estuvieron conformados por 5 animales de experimentación pertenecientes a la especie *Rattus rattus*.

Los resultados del primer método o test de formalina en donde se distinguen dos etapas del dolor, la fase aguda en la que según el análisis estadístico de Anova de un factor y su Test de Tukey, se observó que el extracto de puki en las tres diferentes dosis mínima, media y máxima (200, 400 y 800 mg/Kg respectivamente) no tiene efecto en esta fase ya que es similar al control, en cambio en la fase crónica (15-30 minutos de observación) el grupo tratado con la dosis máxima presenta efecto analgésico, sin embargo, este se sitúa por debajo del grupo control positivo tratado con 10 mg/Kg tramadol.

En cuanto al segundo método que fue el test de foco calorífico en donde se expone la cola del animal a un estímulo doloroso térmico que se origina en una bombilla eléctrica de 60 Watts, registrándose el tiempo que demora en retirar el animal su cola desde que es colocado a la fuente de calor, según el análisis estadístico de Anova de dos factores y su Test de Tukey, se observó que el extracto de puki en dosis media y máxima 400 y 800 mg/Kg respectivamente, muestran efecto pero también este se sitúa por debajo del grupo control positivo tratado con 100 mg/Kg de ácido acetil salicílico.

Finalmente se evaluó la toxicidad del extracto etanólico de puki en donde se administró tres dosis crecientes en series de 800 mg, administrando dosis de 1600 mg/Kg, 2400 mg/Kg y 3200 mg/kg, no se estableció la dosis letal 50 (DL50) ya que ningún animal murió, se concluyó luego del análisis de manifestaciones tóxicas y peso corporal, que el extracto de puki no reviste mayor toxicidad ya que solo se vieron manifestaciones toxicológicas menores a nivel autonómico y referidas solo a la piloerección y movimientos deglutorios principalmente.

Palabras claves: analgésico, toxicidad, sumidad y extractos.

ABSTRACT

The present experimental study was carried out in the bioterium and Pharmacognosy Laboratory of the Catholic University of Santa María, and had as main objectives, first to evaluate the acute toxicity and the analgesic effect of the extracts of the flowering summit of *Coreopsis fasciculata* (Puki) commonly known as puki, in experimental animals.

The investigation started with the obtaining of three extracts, which differ by the nature of the solvent used, all three were obtained by the distillation method with Soxhlet equipment. The solvents used were ethyl alcohol, chloroform and petroleum ether, and the mean yields found for each were $30.17 \pm$, $14.43 \pm$ and $7.79 \pm$ D.S% respectively.

Once the extracts were obtained, a pilot test was carried out in order to determine which of them has greater preliminary analgesic efficacy, with the ethanolic extract having the greatest effect. It was this extract that underwent a preliminary phytochemical study, revealing the presence of terpenic substances, saponins, sterols, flavonoids and tannins.

The analgesic effect was evaluated using two experimental models that use animals, the formalin test or chemical method, and the calorific focus or thermal method. To do this, each animal was labeled and identified with the objective of choosing or constituting the groups at random, first the formalin test was done and then with the same animals, a new random distribution was made for the calorific focus test. In both methods five groups were constituted: a) negative control group to which 0.9% saline was administered; b) minimum dose group to which 200 mg / Kg of ethanolic puki extract was administered; c) medium dose group to which 400 mg / Kg of ethanolic puki extract was administered; d) maximum dose group to which 800 mg / Kg of ethanolic puki extract was administered; and e) positive control group that was administered for the formalin tramadol test method and for the acetylsalicylic acid calorific focus test. All the groups consisted of 5 experimental animals belonging to the *Rattus rattus* species.

The results of the first method or formalin test where two stages of pain are distinguished, the acute phase in which according to the statistical analysis of Anova of a factor and its Tukey test, it was observed that the puki extract in the three different minimum, medium and maximum doses (200, 400 and 800 mg / Kg respectively) has no effect in this phase since it is similar to the control, whereas in the chronic phase (15-30 minutes of observation) the group treated with the dose The maximum effect has an analgesic effect, however, it is below the positive control group treated with 10 mg / kg tramadol.

Regarding the second method that was the calorific focus test where the tail of the animal is exposed to a thermal painful stimulus that originates in a 60 Watt electric bulb, recording the time it takes to remove the animal its tail since it is placed to the source of heat, according to the Anova two-factor statistical analysis and Tukey's Test, it was observed that the puki extract in average and maximum doses 400 and 800 mg / Kg respectively, show an effect but this is also placed by under the positive control group treated with 100 mg / Kg acetylsalicylic acid.

Finally, the toxicity of the putan ethanolic extract was evaluated, where three increasing doses were administered in series of 800 mg, administering doses of 1600 mg / kg, 2400 mg / kg and 3200 mg / kg, the lethal dose 50 was not established (LD50) since no animal died, it was concluded after the analysis of toxic manifestations and body weight, that puki extract does not have greater toxicity since only minor toxicological manifestations were seen at the autonomic level and referred only to piloerection and swallowing movements mainly.

Keywords: analgesic, toxicity, sumidad and extracts.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia las civilizaciones se han movido alrededor de las plantas, constituyendo los seres vivos que más han influido en la humanidad. La conservación de las semillas en cuencos de barro por nuestros antepasados permitió liberarse de la recolección de plantas silvestres y el invento de la agricultura con la consecuente desaparición progresiva de las culturas nómadas. La búsqueda de especies permitió el descubrimiento del continente americano y la aparición del colonialismo. Igualmente, la búsqueda de especies medicinales, narcóticos o con propiedades afrodisíacas ha movido al hombre a buscar en los lugares más recónditos.

La importancia de las plantas medicinales se hace más patente en la actualidad en los países en vías de desarrollo. En Pakistán se estima que un 80 % de las personas dependen de estas para curarse, un 40 % en la China. En países tecnológicamente avanzados como los Estados Unidos se estima que un 60 % de la población utilizan habitualmente plantas medicinales para combatir ciertas dolencias. En Japón hay más demanda de plantas medicinales que de medicinas oficiales. En nuestro medio no existen cifras sobre el consumo de plantas medicinales de parte de los peruanos, sin embargo, a simple vista no solo de la demanda de plantas medicinales sino también de su propia oferta, y la publicidad paralela es fácil deducir que el uso de plantas medicinales en nuestra cultura en los distintos estratos sociales tiene mucha importancia.

Junto a ello, aún existen muchas plantas medicinales que no corresponden al comercio usual de productos naturales, sino más bien pertenecen a la medicina popular o tradicional, y que sin embargo no tienen mucha investigación no solo sobre sus efectos terapéuticos sino también sobre su seguridad, por lo que resulta importante no solamente verificar los efectos positivos en la salud del ser humano sino también los efectos deletéreos. La especie *Coreopsis fasciculata* o comúnmente conocida como “puki” es una hierba medicinal perteneciente a la familia de las asteráceas que crece en muchas zonas del departamento de Arequipa siendo amplia su distribución, y que la gente consume en forma de mates y aplicadas localmente en procesos dolorosos, la bibliografía así como los antecedentes de la investigación no se encuentran disponibles para esta especie por lo que motiva el presente estudio, con la finalidad de contribuir con la misma y con la comunidad; a lo largo de este estudio se evaluó extractos de puki obtenidos mediante equipo de destilación Soxhlet, utilizándose para la evaluación de la toxicidad aguda y efecto analgésico en animales de experimentación.

OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar la toxicidad aguda y el efecto analgésico de los extractos de la sumidad florida de *Coreopsis fasciculata* o “puki” en animales de experimentación.

ESPECÍFICOS

1. Determinar el rendimiento para la obtención de extractos de sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* (puki) con distintos disolventes mediante el método de Soxhlet.
2. Establecer el tipo de extracto de sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* (puki) que tiene mayor efecto analgésico.
3. Determinar los grupos de metabolitos secundarios que se encuentran presentes en el extracto de sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* (puki) mediante el método de cromatografía en capa fina.
4. Evaluar el efecto analgésico del extracto de sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* (puki) por el método químico con formalina.
5. Evaluar el efecto analgésico del extracto de sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* (puki) por el método térmico.
6. Establecer la DT50 o DL50 del extracto de sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* (puki) en animales de experimentación tipo ratones de laboratorio.

HIPÓTESIS

Dado que si el saber popular atribuye a las sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* (puki) efectos sobre el tratamiento del dolor es probable que la administración de los extractos en animales de experimentación presente efectos analgésicos.



CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 *Coreopsis fasciculata* (PUKI)

1.1.1 Nombre científico

Coreopsis fasciculata Weed

1.1.2 Nombres comunes

Puki

1.1.3 Descripción botánica

Arbusto de 0.7 m de altura ramificado desde la base, ramas erguidas o ascendentes. Hojas opuestas sésiles de 3 – 6 cm de longitud, de lámina profundamente sectada, con lóbulos de ápices agudos o redondeados, resinosa. Capitulescencia solitaria, terminal. Capítulos radiados, involucre hemisférico de 7 – 9 mm de alto por 5 – 15 mm de diámetro, filarias biseriadas las externas coriáceas, ápice agudo, oscuro, las internas ovado espatuladas, ápice obtuso, membranáceos, flores del radio amarillas, liguladas neutras, ápice tridentado. Flores del disco numerosas, tubulares, hermafroditas, pentadentados. Aquenios de 2 mm de largo, papus formado por páleas carinadas en el dorso. ⁽³⁹⁾



Figura 1. Coreopsis fasciculata (Puki)

1.1.4 Distribución

Arbusto perenne que se desarrolla en laderas de cerros, pendientes rocosas, bordes de caminos cerca a los cultivos y escorrentías de agua.

Ambiente primario: Precordillera, Valles agrícolas de precordillera.

Desde los 2900 – 3500 m. ⁽⁴⁴⁾

1.1.5 Usos medicinales

Dolor de estómago, se utiliza las ramas tomando el mate. Reumatismo las ramas, hervir las ramas con taya y bañarse. ⁽⁴⁴⁾

1.2 DOLOR

El dolor es una incomodidad causada por lesión tisular o estímulo nocivo, y suele llevar a una acción evasiva. Pocas personas disfrutan el dolor y sería deseable que semejante cosa dejara de existir, pero es uno de los sentidos más importantes y se estaría mucho peor sin él. La evidencia de su valor puede observarse en enfermedades como la lepra y la diabetes mellitus, donde el sentido de dolor se pierde debido al daño nervioso (neuropatía). La ausencia de dolor impide que la gente cobre conciencia de lesiones menores; como las pasan por alto, a menudo se infectan y empeoran al punto de que la víctima puede perder dedos de pies y manos, o incluso extremidades completas. ⁽³⁶⁾

En resumen, el dolor es una sensación adaptativa y necesaria. No se trata sólo de un efecto de la estimulación excesiva de fibras nerviosas relacionadas con otras funciones, sino que es mediado por sus propias fibras nerviosas especializadas, los nociceptores. Éstos tienen una densidad muy alta en piel y mucosas, y están presentes en casi todos los órganos, aunque no en el encéfalo ni en el hígado. En algunas cirugías cerebrales, el paciente debe permanecer consciente y tener la capacidad de hablar con el cirujano. Estos pacientes sólo necesitan un anestésico local. Sin embargo, los nociceptores se encuentran en las meninges y desempeñan un papel importante en las cefaleas. ⁽³⁶⁾

El dolor se define como una desagradable experiencia sensitiva y emocional que se asocia a una lesión actual o potencial de los tejidos. Es siempre subjetiva; cada individuo aprende a aplicar este término a través de sus experiencias traumáticas juveniles.

(18)

Hay dos tipos de nociceptores, que corresponden a diferentes sensaciones de dolor. Las fibras de dolor mielínicas conducen los impulsos a una velocidad de 12 a 30 m/s y producen la sensación de dolor rápido (primer dolor): una sensación de dolor agudo, localizado y punzante, que se percibe en el momento de la lesión. Las fibras de dolor amielínicas conducen a una velocidad de 0.5 a 2.0 m/s y producen el dolor lento (segundo dolor): una sensación duradera, inespecífica, difusa. ⁽³⁶⁾

El dolor en piel, músculos y articulaciones es el dolor somático, y el de las vísceras es, por supuesto, el dolor visceral. Este último a menudo se debe a estiramiento, irritantes químicos o isquemia, y suele acompañarse de náusea. ⁽³⁶⁾

Los tejidos lesionados liberan varias sustancias químicas que estimulan a los nociceptores y desencadenan el dolor. La bradicinina es el estímulo del dolor más potente que se conoce; duele con intensidad cuando se inyecta bajo la piel. ⁽³⁶⁾

No sólo crea conciencia de las lesiones, sino que activa una cascada de reacciones que promueven la curación. La serotonina, las prostaglandinas y la histamina también estimulan a los nociceptores, al igual que los iones de potasio y el ATP liberado por células destruidas. ⁽³⁶⁾

1.2.1 Dimensiones del dolor

La descripción arriba expuesta implica la existencia de dos elementos en la experiencia dolorosa, que son mutuamente necesarios para que ésta ocurra: 1) una percepción sensorial asociada con la lesión tisular potencial o real, y 2) un sentimiento emocional displacentero que acompaña a la primera. En tal sentido, se han distinguido tres dimensiones en la experiencia dolorosa: 1) sensorio-discriminativa, referida a los aspectos de localización, características espaciotemporales, cualidad e intensidad de la sensación; 2) cognitiva-evaluativa, que comprende la percepción y la apreciación del significado de lo que está ocurriendo, y 3) afectiva-emocional, referida a los sentimientos evocados por dicho conocimiento en relación con el deseo de evitar el daño. Estos tres componentes no pueden considerarse separados o resultantes unos de otros; existe una interdependencia entre ellos, de manera que la estimulación nociceptora genera simultáneamente sensaciones nociceptivas, alarma activación del sistema nervioso autónomo, así como reacciones motoras; todas ellas contribuyen al significado de la experiencia y a su valoración emocional, interaccionando entre sí, de modo que, por ejemplo, el proceso

cognitivo puede aumentar la reacción de alarma o la evaluación cognitiva del proceso ser modificada por la reacción afectiva. ^(44, 36)

1.2.2 Finalidad del dolor

El conocimiento de que se está produciendo una lesión tisular resulta necesario para prevenir su extensión y adoptar conductas de evitación y rechazo. Por ello, una interpretación clásica de la significación biológica del dolor es la que constituye un «sistema de aviso» para prevenir, o al menos reducir, la lesión de los tejidos. Esta interpretación se apoya en numerosos datos experimentales que demuestran que la intensidad de la sensación dolorosa está más determinada por la velocidad de producción de la lesión tisular que por la magnitud final de dicha lesión. Más aún, las sensaciones de dolor pueden producirse sin que se alcance una intensidad del estímulo suficiente para producir un daño tisular apreciable. Sin embargo, en el caso del dolor visceral o los dolores neuropáticos, la significación del dolor como sistema de alarma es mucho menos clara (véase más adelante). ⁽⁴⁴⁾

1.2.3 Características de la sensación dolorosa

La sensación de dolor, como cualquier otra sensación, puede ser cuantificada en sus dimensiones espaciotemporales y afectivas. Los estudios psicofísicos llevados a cabo en seres humanos indican además que es posible medir separadamente o tratar selectivamente con fármacos cada una de estas facetas del dolor. ⁽⁴⁴⁾

El dolor agudo es casi siempre resultado de una lesión, operación o procedimientos médicos invasivos. También puede ser un síntoma de presentación de una infección, como otitis media. El dolor crónico puede ser el síntoma de una gran variedad de problemas de salud, entre ellos reumatismo, lesiones de espalda. ⁽²⁰⁾

1.2.4 Medida del dolor

Los métodos empleados para la medición del dolor en el hombre han sido muy diversos. Puede medirse el umbral doloroso empleando calor radiante y pidiendo al sujeto que señale el momento en que el estímulo es percibido como doloroso, al tiempo que se

mide la temperatura de la piel estimulada. Este método permitió establecer los parámetros psicofísicos de la sensación dolorosa. No obstante, la necesidad de disponer de procedimientos de medida de esta sensación que permitieran evaluar el dolor que se observa en la práctica clínica humana y reducirlo mediante tratamientos farmacológicos ha dado lugar a otros métodos. Entre éstos se encuentran las pruebas de tolerancia al dolor, que miden el tiempo que se resiste el dolor experimental generado por ejemplo por inmersión del brazo en agua fría o por un torniquete, o las escalas ordinales de dolor, que establecen órdenes de magnitud o categorías de dolor, de forma que el paciente o sujeto de experimentación refiere su dolor a una de ellas (p. ej., de 1 a 5, equivaliendo a descriptores verbales de dolor leve, molesto, desagradable, horrible e insoportable). No obstante, los métodos más completos para la evaluación cuantitativa de la sensación dolorosa son los de graduación directa de magnitudes, basados en la evaluación de la magnitud de la sensación en una escala numérica creciente o en una escala analógica (la longitud de una barra luminosa, por ejemplo). A diferencia de los anteriores, el sujeto relaciona directamente la magnitud de la sensación con la escala numérica paralela. ⁽⁴⁴⁾

1.2.5 Intensidad y umbral del dolor

Los numerosos estudios llevados a cabo con los métodos psicofísicos antes reseñados han permitido establecer que, al igual que ocurre con otras sensaciones, en el caso del dolor existe una relación exponencial entre la magnitud de la sensación percibida y la del estímulo aplicado, de acuerdo con la ecuación: ⁽⁴⁴⁾

$$U = kS^n \quad (1)$$

Esto quiere decir en términos intuitivos que la proporción entre la magnitud de dos estímulos de intensidad creciente se conserva para la intensidad de las sensaciones experimentadas. Cuando el exponente de la ecuación (1) sea 1, es decir, $U = kS^1$, ocurrirá que dos estímulos cuya proporción de intensidades sea de 2:1 generarán sensaciones de dolor que serán la una el doble de la otra (2:1). Si el exponente fuera 2, la aplicación de los mismos estímulos, uno de intensidad doble que el otro, daría lugar a la percepción de una sensación dolorosa cuya intensidad sería 4 veces mayor para el segundo estímulo. ⁽⁴⁴⁾

La aplicación de calor sobre la superficie de la piel, midiendo cuidadosamente la temperatura alcanzada, ha sido el estímulo más comúnmente utilizado para cuantificar experimentalmente la sensación de dolor en los seres humanos. Los experimentos llevados a cabo empleando técnicas de graduación directa de magnitudes han dado valores muy constantes de exponente (2,1) para la función que relaciona la temperatura del estímulo con la sensación de dolor cutáneo por él producida. ⁽⁴⁴⁾

Los trabajos pioneros de Hardy y cols. a principios de la década de 1950, empleando esta técnica de radiación térmica de la piel, permitieron establecer que el umbral de dolor es muy estable de unos individuos a otros (alrededor de 45 °C) y poco influenciado por factores tales como edad, sexo, nivel de conciencia, etc. Cuando se aplica repetidamente un estímulo doloroso de intensidad umbral, se produce una adaptación. No obstante, si la intensidad del estímulo es mayor, el umbral no sólo no aumenta con los estímulos repetidos, sino que disminuye. Este fenómeno, denominado hiperalgesia, se analiza más adelante. ⁽⁴⁴⁾

La suma temporal de la información nociceptora desempeña un gran papel en la intensidad de la sensación dolorosa final. Esto es particularmente cierto para la sensación dolorosa evocada por la activación de las fibras nociceptoras amielínicas; es necesaria una frecuencia mínima de descarga en dichas fibras para evocar la sensación de dolor. Sin embargo, y en contraste con lo que ocurre con otras modalidades sensoriales, la suma espacial de las sensaciones dolorosas es pequeña. Dicho de otro modo, ni la aplicación de estímulos subumbrales en un área corporal más extensa genera sensaciones de dolor, ni la intensidad de la sensación dolorosa evocada por el estímulo de un área cutánea pequeña aumenta apreciablemente al incrementar el tamaño de la zona estimulada. Ello por descontado no presupone que la percepción dolorosa total y su correlato afectivo no sean de mayor intensidad en lesiones que afectan a áreas más extensas del cuerpo. ⁽⁴⁴⁾

1.2.6 Tipos de dolor

1.2.6.1 Según su origen

Según el origen del estímulo doloroso se distinguen dos tipos de dolor: el nociceptivo y el dolor neuropático. ⁽³³⁾

1.2.6.1.1 Dolor nociceptivo

Es el desencadenado por la activación directa de los receptores dolorosos (nociceptores) en sus distintas localizaciones. Dependiendo de los nociceptores estimulados, se diferencian dolor somático y dolor visceral: ⁽³³⁾

Dolor somático: se desencadena tras la estimulación de nociceptores localizados en la piel, tejido conjuntivo, aparato locomotor, pleura, pericardio y determinadas zonas de la duramadre. Los impulsos nerviosos discurren por los nervios periféricos. El dolor somático tiene una localización precisa, es continuo y aumenta su intensidad al ejercer presión o con la movilización de las estructuras lesionadas. ⁽³³⁾

Dolor visceral: se desencadena tras la estimulación de nociceptores ubicados en las vísceras (p. ej., hígado, riñón), en las cápsulas que las recubren o en la pared de los vasos. Los impulsos nerviosos discurren por los nervios vegetativos simpáticos y parasimpáticos. El dolor visceral puede ser continuo o intermitente, tiene una localización menos precisa que el somático y puede acompañarse de síntomas vegetativos como sudoración, vómitos, frialdad cutánea, etc. En ocasiones, su localización cutánea no se corresponde con la localización de la víscera que lo provoca; en este caso se denomina dolor referido (p. ej., en la angina de pecho o en el infarto agudo de miocardio, el dolor puede localizarse en la región precordial, pero también en otras zonas: hombros, cuello o extremidades superiores). ⁽³³⁾

1.2.6.1.2 Dolor neuropático

Es consecuencia de la lesión del sistema nervioso, bien a nivel de los nociceptores, de los nervios periféricos o del propio sistema nervioso central. Se trata de un dolor intenso que se acompaña de hormigueos (parestias) o sensaciones desagradables (disestias) y que se localiza en la región de inervación correspondiente al nervio dañado (metámera). ⁽³³⁾

1.2.6.2 Según la duración

De acuerdo con la duración del dolor, se distinguen dos tipos de dolor: ⁽³³⁾

1.2.6.2.1 Dolor agudo

Se genera por una lesión tisular aguda y su intensidad y duración están relacionadas con la evolución clínica de la lesión. En los casos de dolor severo se puede asociar a síntomas vegetativos como sudoración, mareo, etc., aunque el dolor sea de origen somático (p. ej., fractura ósea). Es un dolor «útil» que informa de que algo funciona mal y habitualmente genera ansiedad. ⁽³³⁾

1.2.6.2.2 Dolor crónico

Se puede vincular a enfermedades crónicas (p. ej., cáncer metastásico) y a veces se prolonga a pesar de la curación de la enfermedad que lo produjo (p. ej., neuralgia tras herpes zóster). También es posible, como ya se ha comentado, que el dolor no se relacione con ninguna lesión tisular objetivable (p. ej., fibromialgia). En contraposición al dolor agudo, se trata de un dolor «inútil» que suele llevar asociado un componente depresivo por la limitación en la calidad de vida que supone. Esto obliga en muchas ocasiones a un tratamiento multifactorial. ⁽³³⁾

1.2.7 Hiperalgnesia y alodinia

Se puede definir la hiperalgnesia como un aumento de las respuestas a estímulos que son normalmente dolorosos. La hiperalgnesia es un fenómeno sensorial que aparece en individuos normales como consecuencia de las lesiones tisulares, pero puede también presentarse sin lesión originante, como consecuencia de síndromes neuropáticos. El dolor visceral referido también se acompaña a menudo de sensaciones hiperalgnesias en la zona somática a la que el dolor se proyecta. La hiperalgnesia proporciona al organismo un mecanismo protector añadido al del dolor, ya que contribuye a la prevención de estimulaciones adicionales de la zona lesionada y, con ello, estimula el proceso curativo y de cicatrización de la lesión originante. ⁽⁴⁴⁾

La hiperalgnesia producida por una lesión abarca dos zonas concéntricas: la zona de hiperalgnesia primaria que rodea inmediatamente a la lesión, y la zona de hiperalgnesia secundaria que se extiende más allá de la zona dañada, abarcando áreas no afectadas por la lesión. En la zona de hiperalgnesia primaria cualquier forma de estímulo de baja intensidad (térmico, mecánico, etc.) evoca sensaciones dolorosas, lo cual se debe a la

sensibilización de los nociceptores que inervan el área lesionada. La hiperalgesia primaria puede ser interpretada por lo tanto como un proceso puramente periférico debido a un cambio en las propiedades fisiológicas de los nociceptores que inervan el tejido lesionado (véase más adelante «sensibilización de los nociceptores e inflamación neurógena»).⁽⁴⁴⁾

Esta interpretación no puede, sin embargo, extenderse a los mecanismos de la hiperalgesia secundaria. Esta forma de hiperalgesia se caracteriza por un cambio en la modalidad sensorial evocada por activación de mecanorreceptores de bajo umbral y por un aumento de las sensaciones dolorosas evocadas por estímulos mecánicos de alta intensidad. Estas dos alteraciones producen respectivamente la sensación de dolor evocado por el tacto y el aumento de la sensibilidad a los estímulos mecánicos nocivos. Ninguna de ellas es atribuible a mecanismos periféricos, sino que se producen por variaciones en el procesamiento central de las señales generadas en mecanorreceptores de bajo umbral (dolor evocado por el tacto) y de alto umbral (aumento de sensibilidad dolorosa mecánica). Estos cambios centrales están provocados por el aumento de actividad aferente que proviene de la zona de hiperalgesia primaria como consecuencia de la sensibilización de nociceptores periféricos (véase «modulación del mensaje sensorial en la médula espinal»).⁽⁴⁴⁾

Una de las alteraciones sensoriales de la hiperalgesia es el dolor evocado por el tacto, una sensación para cuya designación se utiliza el término «alodinia», definido como «dolor producido por un estímulo que normalmente no causa dolor». La hiperalgesia y la alodinia son fenómenos de una importancia por dos motivos fundamentales: en primer lugar, su aparición demuestra claramente que la sensación de dolor es un proceso dinámico cuya intensidad y magnitud depende del historial de la zona afectada y no sólo del estímulo originante. Por otro lado, la sensación de dolor evocado por el tacto (alodinia de tipo A- β) demuestra que el dolor puede ser producido en sujetos normales por la activación de mecanorreceptores de bajo umbral, bien entendido que esto sólo ocurre cuando existe o ha existido una lesión periférica previa. Estas interpretaciones tienen consecuencias importantes para el análisis y tratamiento del dolor neuropático, ya que es muy posible que las manifestaciones de alodinia y de dolor evocado por el tacto que caracterizan a los síndromes neuropáticos no sean más que expresiones fisiopatológicas del mecanismo normal de la hiperalgesia secundaria.⁽⁴⁴⁾

1.2.8 Rutas de proyección para el dolor

A los médicos se les dificulta mucho localizar el origen del dolor de un paciente, porque viaja por rutas muy diversas y complejas, y porque la sensación puede originarse en cualquier lugar a lo largo de esas rutas. Las señales de dolor alcanzan el encéfalo por dos rutas principales, pero hay varias subrutas dentro de ellas: ⁽³³⁾

Las señales de dolor de la cabeza viajan al tallo encefálico por los cuatro pares craneales, sobre todo el nervio trigémino (V), pero también por el facial (VII), el glossofaríngeo (IX) y el vago (X). Las fibras del trigémino entran en la protuberancia y descienden para hacer sinapsis en el bulbo raquídeo. Las fibras de dolor de los otros tres pares craneales también terminan en este punto. Las neuronas de segundo orden surgen en el bulbo y ascienden al tálamo, que retransmite el mensaje a la corteza cerebral. Un poco más adelante se estudia la retransmisión del tálamo a la corteza. ⁽³⁶⁾

Las señales de dolor del cuello hacia abajo viajan por tres de las vías ascendentes de la médula espinal: la vía espinotalámica, la espinoreticular y el fascículo grácil. Estas rutas se describen en el capítulo 13 y no es necesario repetir aquí los conceptos estudiados. La vía espinotalámica es la ruta de dolor más importante y lleva la mayor parte de las señales somáticas de éste que llegan a la corteza cerebral; de esta forma crea la conciencia del dolor. La vía espinoreticular lleva las señales de dolor a la formación reticular del tallo encefálico, de donde se retransmiten al hipotálamo y al sistema límbico. Estas señales de dolor activan las reacciones viscerales, emocionales y conductuales ante el dolor, como náusea, miedo y algunas respuestas reflejas. Sólo hasta hace poco se reconoció que el fascículo grácil es una ruta de dolor; lleva señales de dolor visceral al tálamo (como el dolor de estómago o de la expulsión de un cálculo renal). ⁽³⁶⁾

Cuando el tálamo recibe señales de dolor de las fuentes anteriores, retransmite la mayor parte de ellas a través de neuronas de tercer orden a su destino final en la circunvolución poscentral del cerebro. El lugar exacto de la circunvolución en el que se recibe el dolor depende del origen de éste. La mayor parte de esta circunvolución es somatosensitiva: recibe señales de dolor somático y de otros sentidos. Sin embargo, una región profunda de la circunvolución dentro de la cisura de Silvio del encéfalo es el área viscerosensitiva, que recibe las señales viscerales comunicadas por el fascículo grácil. ⁽³⁶⁾

Con frecuencia se considera, de manera errónea, que el dolor visceral proviene de la piel u otros sitios superficiales (p.ej., el dolor de un ataque al corazón se siente como

si “irradiara” a lo largo del hombro izquierdo y en el lado medial del brazo). Este fenómeno, denominado dolor referido, es resultado de la convergencia de rutas neurales en el SNC. Por ejemplo, en el caso del dolor cardiaco, los segmentos de la médula espinal T1 a T5 reciben información del corazón y también del tórax y el brazo. Las fibras del dolor del corazón y la piel en esta región convergen en las mismas interneuronas espinales, luego siguen la misma ruta desde allí hasta el tálamo y la corteza cerebral. El encéfalo no puede distinguir de cuál fuente provienen las señales; actúa como si supusiera que el lugar de procedencia más probable es la piel, porque ésta tiene más receptores de dolor que el corazón y sufre lesiones con mayor frecuencia. El conocimiento de los orígenes del dolor referido es esencial para establecer con pericia el diagnóstico de funciones orgánicas. ^(20, 36)

1.2.9 Modulación endógena del dolor

La percepción de las sensaciones dolorosas puede ser modificada por numerosos procedimientos terapéuticos, médicos y quirúrgicos, pero existen dos procedimientos totalmente naturales que pueden alterar profundamente e incluso abolir el dolor: i) la aplicación de un estímulo doloroso aún más intenso en otro lugar del organismo y ii) niveles elevados de excitación psicógena y de estrés. ^(16, 44)

El hecho de que «el dolor inhibe al dolor» es conocido desde antiguo y ha sido usado terapéuticamente a lo largo de los siglos. El mecanismo neurofisiológico que media este tipo de inhibición del dolor se conoce como DNIC (Diffuse Noxious Inhibitory Controls) y se comentará más adelante. Por otro lado, unos niveles elevados de excitación psicógena y de estrés, por ejemplo durante la práctica de deportes competitivos o en casos de lucha y combate, modifican la percepción del dolor hasta el extremo de que es posible padecer lesiones traumáticas intensas sin que se perciba sensación dolorosa alguna. Este tipo de modulación endógena del dolor se expresa mediante mecanismos que ya aparecen a niveles muy elementales de la integración nociceptiva, incluso en la médula espinal. Los mecanismos medulares de modulación incluyen tanto aquellos que tienden a inhibir la transmisión de impulsos nociceptivos (inhibición descendente) como a los que tienden a amplificar e incrementar el dolor (excitación descendente). Las circunstancias individuales y sociales del sujeto determinan cuál de estos dos mecanismos prevalece, lo cual a su vez determina si la sensación dolorosa se reduce, para facilitar la huida, o aumenta, para facilitar la curación. ⁽⁴⁴⁾

1.2.10 Tratamiento farmacológico del dolor

1.2.10.1 Analgésicos Antipiréticos

El ácido acetilsalicílico es el analgésico más utilizado a nivel mundial. Junto con sus afines, los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y los antipiréticos paracetamol y fenacetina, forma un grupo que constituye la estructura básica del tratamiento farmacológico del dolor. Los analgésicos antipiréticos ejercen su efecto antinociceptivo mediante la inhibición de la ciclooxigenasa, la enzima limitante de la velocidad en la producción de prostaglandinas, lo que sensibiliza a los nocirreceptores y regula la inflamación. Hay varias diferencias farmacológicas entre los AINE y la fenazona y el paracetamol. Mientras que los AINE actúan tanto central como periféricamente, lo que los hace eficaces agentes tópicos para alteraciones inflamatorias nociceptivas, la principal localización de inhibición enzimática del paracetamol es el sistema nervioso central. Este es también un analgésico más débil que los AINE y carece en cierta medida de efectos antiinflamatorios. ⁽¹⁷⁾

El principal inconveniente de los analgésicos antipiréticos no opioides es su efecto techo, que puede hacer que sean ineficaces como tratamiento único del dolor intenso. Para el dolor oncológico, la Organización Mundial de la Salud aboga por la adición de opioides a un régimen analgésico no controlado por AINE, no por su sustitución. Los AINE actúan sinérgicamente con los opioides y han constatado un efecto de ahorro de administración de estos. Se sabe que el ácido acetilsalicílico, los AINE y el paracetamol son más eficaces en el tratamiento del dolor nociceptivo que en el del dolor neuropático, aunque muchas personas con este tipo de dolor toman AINE regularmente. ⁽¹⁷⁾

Un importante problema de los antipiréticos no opioides son sus efectos secundarios. Los de los AINE son hemorragia, úlcera gastrointestinal, toxicidad renal y aumento del riesgo de episodios cardiovasculares. Aunque el uso de inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2, como celecoxib, o la adición de inhibidores de la bomba de protones a los AINE convencionales atenúan el riesgo de hemorragia y úlcera, no afecta a la incidencia de episodios adversos renales o cardiovasculares. Estos riesgos están sensiblemente aumentados en ancianos, en pacientes con múltiples enfermedades concomitantes y en los tratados con polifarmacia. En función de sus considerables efectos secundarios, los AINE han de recetarse en las dosis más bajas posibles, durante períodos breves y con vigilancia periódica. Dado su mejor perfil de seguridad, el paracetamol se

considera a menudo la primera opción terapéutica antes que los AINE, aun con trastornos dolorosos asociados a inflamación. Los AINE tópicos (p. ej., diclofenaco) también han demostrado en ensayos controlados aleatorizados un efecto beneficioso en trastornos reumatológicos, alegando su eficacia comparable en alteraciones con dolor regional y los menores efectos adversos respecto a los AINE sistémicos. ⁽¹⁷⁾

1.2.10.2 Analgésicos complementarios

Se han publicado múltiples directrices basadas en la evidencia para el tratamiento de los estados de dolor crónico, particularmente de dolor neuropático. En general, en ellas se indica que los antidepresivos y los anticonvulsivos deben ser los dos tipos de fármacos de primera línea para tratar el dolor neuropático. ⁽¹⁷⁾

Dependiendo del medicamento y del trastorno, estos fármacos han demostrado que consiguen un significativo alivio del dolor en pacientes cuidadosamente seleccionados, por encima de los resultados registrados con placebo en el 10-40% de los candidatos farmacológicos ideales. Mientras que los opioides han constatado una eficacia similar contra el dolor neuropático, los anticonvulsivos y antidepresivos comportan menor riesgo de efectos adversos graves y de tolerancia a largo plazo, lo que los hace preferibles en tratamientos no oncológicos prolongados. ⁽¹⁷⁾

En términos de eficacia, los antidepresivos tricíclicos (ATC) son superiores a los inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina, que se vuelven más eficaces que los inhibidores de la recaptación de la serotonina específicos. No obstante, dado su mejor perfil de efectos secundarios, los inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina pueden resultar más eficaces que los ATC en ciertos pacientes. Entre los diversos ATC, la amitriptilina es el mejor estudiado, y su eficacia es probablemente comparable a la de su metabolito, la nortriptilina, y su afín, la imipramina. Sin embargo, el perfil de efectos secundarios más favorable de estos últimos (p. ej., menores sedación y actividad colinérgica) hacen que sean preferibles para el dolor neuropático. En pacientes que no toleran los ATC, los inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina, como duloxetina, pueden ser beneficiosos. ⁽¹⁷⁾

Además de actuar contra el dolor neuropático, los antidepresivos han demostrado ser eficaces en la profilaxis de la cefalea, el dolor abdominal y pélvico, la fibromialgia y el dolor musculoesquelético. ^(12, 17)

Los anticonvulsivos actúan contra el dolor neuropático en virtud de sus propiedades estabilizadoras de membrana. Aunque en ocasiones resultan mejores que los antidepresivos para el dolor neuropático «de tipo lancinante» prototípico, estos son más versátiles y han demostrado efectos beneficiosos en otros muchos trastornos dolorosos. Por su alta eficacia y su perfil de efectos beneficiosos favorable, la gabapentina y la pregabalina son los fármacos de primera opción en numerosos tipos de dolor neuropático. Además de sus propiedades independientes de alivio del dolor, hay ensayos controlados aleatorizados que indican que estos fármacos actúan sinérgicamente con opioides y antidepresivos e inducen efecto ansiolítico y efectos analgésicos anticipados cuando se administran antes de la cirugía. ⁽¹⁷⁾

Cuando los gabapentinoides son ineficaces o no se toleran, es posible utilizar anticonvulsivos alternativos que actúen mediante mecanismos celulares diferentes, como la lamotrigina y la oxcarbacepina. Para la neuralgia del trigémino, la carbamacepina continúa siendo el tratamiento de elección, aunque sus efectos adversos, como el riesgo de agranulocitosis, limitan su uso en otros trastornos. Otras clases de fármacos complementarios que pueden ser útiles en determinados contextos son las cremas tópicas (p. ej., de capsaicina), los antagonistas del N-metil-d-aspartato (p. ej., dextrometorfano), los relajantes del músculo esquelético (p. ej., baclofeno), los cannabinoides y los antiarrítmicos (mexiletina). Los parches tópicos de lidocaína han demostrado que reducen el dolor y la alodinia en pacientes con neuralgia postherpética, y evidencias ocasionales indican que pueden contribuir a tratar ciertos tipos de dorsalgia. Los parches con alta concentración (8%) de capsaicina (el compuesto químico que otorga el sabor picante a las guindillas) han demostrado en ensayos clínicos que consiguen un sustancial alivio del dolor comparados con placebo en la neuralgia postherpética y la neuropatía por el VIH. Una sola aplicación de 1 h puede atenuar el dolor durante hasta 12 semanas. ⁽¹⁷⁾

1.2.10.3 Analgésicos opioides

Los analgésicos opioides son la base del tratamiento del dolor oncológico. Aunque estudios aleatorizados han determinado que los opioides son eficaces en alteraciones dolorosas no cancerosas, varias revisiones y directrices han establecido que proporcionan mejoría a largo plazo solo en una minoría de personas, y que su superioridad y su capacidad de mejora funcional respecto a otros analgésicos son limitadas o no concluyentes. La optimización de los efectos terapéuticos de los opioides requiere una

cuidadosa planificación, a fin de equilibrar los efectos beneficiosos con los efectos adversos, incluida la adicción. El conocimiento de la farmacología clínica de los opioides – potencia relativa, duración de la acción, biodisponibilidad y farmacocinética– es esencial para su uso racional. Su empleo en el tratamiento del dolor crónico se ve limitado por sus múltiples efectos secundarios, como náuseas, estreñimiento, sedación, prurito, depresión respiratoria y carencias endocrinas, que precipitan la disfunción sexual y la osteoporosis. El abordaje agresivo con ablandadores de heces y potenciadores de la motilidad intestinal, como el docusato y la sena, minimiza el estreñimiento. La mayoría de los opioides carecen de toxicidad de órganos terminales, con excepción de la petidina. Uno de sus metabolitos, la norpetidina, se acumula tras varios días de tratamiento, causando mioclonía y ansiedad. Con dosis altas pueden registrarse confusión, delirio y convulsiones. Los opioides que se eliminan predominantemente por el riñón, como la morfina, han de emplearse con precaución en caso de disfunción renal. Dos metabolitos de la morfina, morfina-6-glucuronato, de propiedades analgésicas, y morfina-3-glucuronato, que amplifica el dolor en determinados contextos, se acumulan en pacientes con disfunción renal y potencian los efectos secundarios de la morfina. Posibles opciones son el fentanilo y la metadona.⁽¹⁷⁾

Para el dolor agudo o el agravamiento del crónico en hospitalizados (p. ej., por crisis drepanocítica), la analgesia controlada por el paciente (ACP) es un medio adecuado de administrar opioides. La morfina, el fentanilo o la hidromorfona intravenosos suelen administrarse con un dispositivo de infusión, en el que pueden programarse la infusión basal, la dosis en bolo, el intervalo de bloqueo y la dosis máxima por hora. Los sistemas de ACP son seguros y permiten que los pacientes controlen su dolor, lo que supone menor dependencia del personal sanitario. Los estudios que comparan la ACP con la administración convencional de opioides han determinado que la ACP se asocia a mayor alivio del dolor y mayores tasas de satisfacción, aunque se consume mayor cantidad de fármacos.⁽¹⁷⁾

Entre los pasos esenciales del abordaje del dolor crónico se cuentan la evaluación idónea, la documentación clara y detallada, un plan terapéutico de base funcional con objetivos definidos, entre ellos la estrategia de salida, un acuerdo médico-paciente por escrito que incorpore el consentimiento informado y las instrucciones al paciente, revisiones periódicas del progreso hacia la consecución de los objetivos funcionales y eventuales derivaciones a especialistas de casos difíciles. Cuando se considera un ensayo con opioides, los profesionales sanitarios han de tener en cuenta el

proceso de la enfermedad, a fin de valorar rasgos como el cumplimiento y la responsabilidad, y proceder a estratificar riesgos y controlar los objetivos terapéuticos predefinidos, así como los comportamientos aberrantes relacionados con los fármacos. ⁽¹⁷⁾

El uso de opioides a largo plazo puede implicar el desarrollo de tolerancia y dependencia psíquica. La tolerancia cruzada entre opioides no es completa, y una estrategia aplicada a menudo cuando hay sospecha de tolerancia es la rotación a un opioide alternativo, de manera que se reduce la dosis equianalgésica en un 30-50%. Las tasas de adicción registradas en estudios varían ampliamente, de menos del 5 al 50%, como consecuencia de las diferencias entre las poblaciones estudiadas, las definiciones y los métodos de seguimiento. Una síntesis de las evidencias disponibles indica que, en casos de dolor crónico tratado con opioides, hasta el 40% presentan comportamiento aberrante relacionado con el fármaco, el 20% toman dosis excesivas y alrededor del 10% pueden convertirse en adictos. ⁽¹⁷⁾

El tramadol y el tapentadol constituyen una nueva clase de analgésicos con mecanismo de acción dual. El tramadol es un agonista débil que inhibe la recaptación de noradrenalina y serotonina. Además de los efectos secundarios habituales en los opioides, se han notificado convulsiones inducidas por tramadol, así como interacciones farmacológicas adversas en pacientes que toman warfarina e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina. El tapentadol también presenta mecanismo dual, como antagonista m de los opioides y como inhibidor de la recaptación de noradrenalina, y es algo más fuerte que el tramadol. Este último está actualmente aprobado para el tratamiento del dolor moderado o moderadamente intenso. El tapentadol está autorizado para tratamiento del dolor agudo moderado o intenso y por su forma de liberación prolongada está aprobado para el dolor crónico moderado o intenso y para la neuropatía diabética. ⁽¹⁷⁾

1.2.11 Tratamientos físicos

El uso de tratamientos «físicos» para aliviar el dolor y mejorar la funcionalidad es uno de los pilares del abordaje multimodal del paciente con dolor. Los fisioterapeutas evalúan, instruyen y proporcionan intervenciones mínimamente invasivas que ayudan a prevenir el dolor y la disfunción. En ellas se abordan los mecanismos causantes del dolor (p. ej., corrigiendo las anomalías de la marcha) y los correspondientes tratamientos (p. ej., aplicación de compresas calientes y frías, manipulación articular). ⁽¹⁷⁾

El ejercicio, empleado durante décadas para tratar el dolor crónico y como medio de prevención de lesiones, actúa a través de múltiples mecanismos, como la mejora del flujo sanguíneo, la liberación de endorfinas, los efectos antiinflamatorios, la activación de vías inhibitorias y la mejora del sueño y del estado de ánimo. Aunque el núcleo de la investigación en este campo es el dolor vertebral, también se han documentado buenos resultados en cuadros como la fibromialgia, las cefaleas, la artritis, el dolor neuropático y el cáncer. ⁽¹⁷⁾

1.2.12 Terapias complementarias y alternativas

Con creciente frecuencia los pacientes solicitan tratamientos de medicina complementaria y alternativa (MCA), que registra tasas de utilización del orden del 40%. El dolor es su indicación más frecuente. Algunas de las modalidades de MCA más generalizadas son la acupuntura, la quiropraxia y el yoga, todas las cuales reportan beneficios en determinados contextos. Sin embargo, la magnitud de su efecto tiende a ser modesta, y hay escasas evidencias que permitan recomendar una de estas modalidades en detrimento de otra o de tratamientos médicos convencionales. ^(12, 17)

1.3 TRAMADOL

Es un agonista parcial de receptores μ ; estructuralmente es un análogo de la codeína. Al igual que la metadona constituye una mezcla racémica. ⁽²⁾

1.3.1 Mecanismo de acción

En el mecanismo de acción interviene el sistema opioide y también otros vías no opioides. En efecto es un agonista de los receptores μ , δ y κ , aunque se une a ellos con poca afinidad unas 10 veces menos que la codeína, pero preferentemente a μ . Su potencia analgésica se debe a la activación del sistema opioide a cargo del enantiómero (+); y la inhibición de la recaptación de serotonina (también por acción del enantiómero +) y se une a receptores α_2 -adrenérgicos (por acción del enantiómero -). Además potencia la liberación neuronal de serotonina. ⁽²⁾

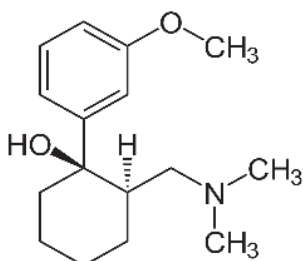


Figura 2. Tramadol

1.3.2 Usos terapéuticos

Está indicado en el tratamiento de dolores medios a moderados, ya que en el dolor intenso es menos eficaz que otros agonistas opioides. ⁽²⁾

1.3.3 Farmacocinética

Se absorbe bien por vía oral con una biodisponibilidad del 68%. Se distribuye con rapidez, se une a proteínas plasmáticas en el 20%, y pasa la barrera placentaria. Se metaboliza en el 80% por desmetilación y posterior conjugación. Uno de sus metabolitos es el O-desmetiltramadol también activo, cuya semivida es superior a la del tramadol (7-9 horas frente a 5-6 horas). Esta desmetilación requiere del CYP2D6, estando sometida a un polimorfismo genético. ^(2, 15)

1.3.4 Efectos adversos

Debido a su baja afinidad por los receptores opioides, los efectos secundarios de tipo opioides (tolerancia, dependencia, depresión respiratoria, estreñimiento y retención urinaria) son poco acusados. Sin embargo puede desencadenar convulsiones (sobre todo en presencia de factores predisponentes) náuseas, vómitos, cefaleas y mareo. ⁽¹⁵⁾

Aunque no está claro su potencial de abuso, este medicamento quizá deba evitarse en personas con antecedente de adicción. ⁽²⁾

1.3.5 Interacciones

Es importante recordar, que como cabe esperar en virtud de su mecanismo de acción, las interacciones con cualquier fármaco que modifique la actividad del sistema serotoninérgico o adrenérgico contraindican su utilización conjunta. No debe administrarse en pacientes que reciben I-MAO. ^(10, 15)

1.4 ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

El ácido acetilsalicílico (AAS), el prototipo tradicional de AINE, fue aprobada oficialmente por la FDA en 1939. Es el AINE que se utiliza más habitualmente y el arquetipo con el que se comparan los demás antiinflamatorios. ⁽²¹⁾

1.4.1 Mecanismo de acción

El AAS es un ácido orgánico débil, peculiar entre los AINE porque acetila irreversiblemente (y, por lo tanto, inactiva) la ciclooxigenasa. Los otros AINE, incluido el salicilato, son inhibidores reversibles de la ciclooxigenasa. El AAS es desacetilado

rápidamente por las esterasas en el organismo y se produce salicilato, que posee acciones antiinflamatoria, antipirética y analgésica. Los efectos antipirético y antiinflamatorio del salicilato se deben principalmente a que bloquea la síntesis de prostaglandinas en los centros termorreguladores hipotalámicos y en los objetivos periféricos. Además, al disminuir la síntesis de prostaglandinas, el salicilato también previene la sensibilización de los receptores nociceptivos frente a los estímulos mecánicos y químicos. El AAS también puede reducir los estímulos dolorosos a nivel subcortical (tálamo e hipotálamo).⁽²¹⁾

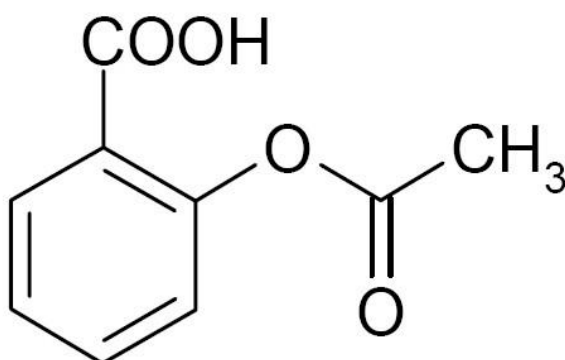


Figura 3. Ácido Acetilsalicílico

1.4.2 Acciones farmacológicas

Los AINE, incluido el AAS, tienen tres efectos terapéuticos principales: reducen la inflamación (antiinflamatorio), el dolor (analgésico) y la fiebre (antipirético). Sin embargo, como se expone más adelante en esta sección, no todos los AINE poseen la misma potencia en cada una de estas acciones.⁽²¹⁾

Acción antiinflamatoria

Como el AAS inhibe la actividad de la ciclooxigenasa, reduce la formación de prostaglandinas y, por lo tanto, modula aquellos aspectos de la inflamación en los que las prostaglandinas actúan de mediadoras. El AAS inhibe la inflamación en la artritis, pero no detiene la progresión de la enfermedad ni induce su remisión.⁽²¹⁾

Acción analgésica

Se cree que la prostaglandina E2 (PGE2) sensibiliza las terminaciones nerviosas a la acción de la bradicinina, histamina y otros mediadores químicos que se

liberan localmente en el proceso inflamatorio. Así pues, al disminuir la síntesis de PGE₂, el AAS y otros AINE reducen la sensación de dolor. Los salicilatos se utilizan principalmente para el tratamiento del dolor de baja o moderada intensidad que proviene de trastornos osteomusculares, más que el dolor de tipo visceral. Las combinaciones de opioides y AINE son eficaces para tratar el dolor causado por los procesos malignos. ⁽²¹⁾

Acción antipirética

La fiebre aparece cuando se eleva el punto de ajuste del centro termorregulador hipotalámico anterior, que puede deberse a la estimulación de la síntesis de PGE₂ cuando un agente endógeno productor de fiebre (pirógeno), como una citocina, es liberado por los leucocitos activados por una infección, hipersensibilidad, procesos malignos o inflamación. Los salicilatos disminuyen la temperatura corporal en los pacientes con fiebre debido a que impiden la síntesis y liberación de PGE₂. El AAS reajusta el «termostato», lo normaliza y disminuye rápidamente la temperatura corporal en los pacientes con fiebre, ya que hace aumentar las pérdidas de calor por vasodilatación periférica y sudoración. El AAS carece de efectos sobre la temperatura corporal normal. ⁽²¹⁾

Acciones respiratorias

A dosis terapéuticas, el AAS aumenta la ventilación alveolar. Las dosis más elevadas actúan directamente sobre el centro respiratorio bulbar, con hiperventilación y alcalosis respiratoria, que habitualmente queda bien compensada por el riñón. A concentraciones tóxicas se produce una parálisis respiratoria central, acompañada de acidosis respiratoria por la producción continuada de CO₂. ⁽²¹⁾

Efectos gastrointestinales

Normalmente, la prostaciclina (PGI₂) inhibe la secreción de ácido gástrico, mientras que PGE₂ y PGF₂ α estimulan la síntesis del moco protector en el estómago e intestino delgado. En presencia del AAS no se forman estos prostanoides, aumenta la secreción ácida gástrica y disminuye el moco protector, ocasionando molestias epigástricas, úlceras, hemorragias y anemia ferropénica. Las dosis de AAS de 1 a 4,5 g/día pueden provocar la pérdida diaria de 2 a 8 ml de sangre por las heces. Los preparados tamponados y con cubierta entérica sólo son marginalmente útiles para

combatir este problema. Los fármacos que se utilizan para la prevención de las úlceras gástricas y/o duodenales incluyen el derivado de la PGE1 misoprostol y los inhibidores de la bomba de protones (IBP) esomeprazol, lansoprazol, dexlansoprazol, omeprazol, pantoprazol y rabeprazol. Los IBP pueden utilizarse también para el tratamiento de las úlceras inducidas por los AINE y son especialmente apropiados si el paciente debe continuar el tratamiento con estos fármacos. Los antihistamínicos H₂ (cimetidina, famotidina, nizatidina y ranitidina) alivian la dispepsia producida por los AINE, pero pueden enmascarar graves problemas GI y es posible que no sean tan eficaces como los IBP para curar las úlceras y prevenir su formación. ^(21, 35)

Efecto sobre las plaquetas

El TXA₂ favorece la agregación plaquetaria, mientras que PGI₂ la reduce. Las dosis bajas (81 a 325 mg al día) de AAS pueden inhibir irreversiblemente la producción de tromboxano en las plaquetas por acetilación de la ciclooxigenasa. Como las plaquetas carecen de núcleo, no pueden sintetizar nueva enzima, y la falta de tromboxano persiste durante toda la vida de la plaqueta (3-7 días). A consecuencia del descenso del TXA₂, disminuye la agregación plaquetaria (el primer paso en la formación del trombo), y se produce un efecto anticoagulante asociado al alargamiento del tiempo de sangría. Finalmente, el AAS inhibe también la ciclooxigenasa en las células endoteliales, y disminuye la formación de PGI₂; sin embargo, estas células poseen núcleos capaces de resintetizar nueva ciclooxigenasa. ⁽²¹⁾

Acciones sobre el riñón

Los inhibidores de la ciclooxigenasa impiden la síntesis de PGE₂ y PGI₂, las prostaglandinas responsables de mantener el flujo sanguíneo renal, especialmente en presencia de vasoconstrictores circulantes. La disminución de la síntesis de prostaglandinas puede dar lugar a la retención de sodio y agua, y a edemas e hiperpotasemia en algunos pacientes. También puede aparecer una nefritis intersticial con todos los AINE, a excepción del AAS. ⁽²¹⁾

1.4.3 Usos terapéuticos

a. Uso antiinflamatorio, antipirético y analgésico: Los derivados del ácido salicílico se utilizan en el tratamiento de la gota, fiebre reumática, artrosis y AR. Los procesos comunes que requieren analgesia son cefaleas, artralgias y mialgias.

c. Aplicaciones cardiovasculares: El AAS se utiliza para inhibir la agregación plaquetaria. A dosis bajas se emplea para: 1) disminuir el riesgo de repetición de ataques de isquemia transitoria (AIT) e ictus o muerte en los individuos que han sufrido uno o varios episodios de AIT o ictus; 2) reducir el riesgo de muerte en los pacientes con infarto agudo de miocardio; 3) disminuir el riesgo de infarto de miocardio recurrente no letal y/o de fallecimiento en los pacientes con infartos previos o angina inestable; 4) reducir el riesgo de infarto de miocardio y muerte súbita en los pacientes con angina de pecho estable crónica; 5) disminuir el riesgo cardiovascular en los pacientes sometidos a ciertos procedimientos de revascularización. ⁽²¹⁾

1.4.4 Farmacocinética

a. Administración y distribución: Después de la administración oral, los salicilatos no ionizados se absorben pasivamente en el estómago y el intestino delgado (la disolución de los comprimidos se favorece en el pH intestinal, más elevado). La absorción rectal es lenta y no fiable, pero es una vía útil en los niños que vomitan. Hay que evitar los salicilatos en los niños y adolescentes (menores de 20 años de edad) con infecciones víricas, como varicela o gripe, para prevenir el síndrome de Reye. Los salicilatos (excepto el dif lunisal) atraviesan la barrera hematoencefálica y la placenta y se absorben a través de la piel íntegra (especialmente el salicilato de metilo). ⁽²¹⁾

b. Dosis: Los salicilatos presentan acción analgésica a dosis bajas, pero sólo a dosis altas tienen actividad antiinflamatoria. Por ejemplo, dos comprimidos de AAS de 325 mg cuatro veces al día producen analgesia, mientras que 12 a 20 comprimidos al día tienen efectos analgésicos y antiinflamatorios. Para la profilaxis a largo plazo del infarto de miocardio, la dosis es de 81 a 162 mg/día; en la AR o la artrosis, la dosis inicial es de 3 g/día; para la profilaxis del ictus, 50 a 325 mg/día; en los pacientes con infarto agudo de miocardio se emplea una dosis de 162 a 325 mg de aspirina sin cubierta entérica, masticada y deglutida de inmediato. ⁽²¹⁾

c. Metabolismo: A la dosis de 650 mg/día, el AAS hidrolizado a salicilato y ácido acético por esterasas en los tejidos y en la sangre. En el hígado, el salicilato se convierte en conjugados hidrosolubles que se eliminan rápidamente por el riñón, con una cinética de eliminación de primer orden y una semivida sérica de 3,5 h. A dosis antiinflamatorias (> 4 g/día) se satura la vía metabólica hepática y tiene lugar una cinética de orden cero, con una semivida de 15 h o más. La saturación de las enzimas hepáticas requiere tratamiento durante varios días a 1 semana. Al ser un ácido orgánico, el salicilato se secreta a la orina y puede influir en la excreción del ácido úrico: a dosis bajas de AAS, disminuye la secreción de ácido úrico, mientras que aumenta a dosis altas. Debe controlarse periódicamente la función hepática y renal en los pacientes que siguen un tratamiento prolongado con altas dosis de AAS. Se evitará la administración de este fármaco a los pacientes con depuración de creatinina inferior a 10 ml/min. ⁽²¹⁾

1.4.5 Efectos adversos

a. Gastrointestinales: Los efectos GI más frecuentes de los salicilatos son molestias epigástricas, náuseas y vómitos. La microhemorragia GI es casi universal en los pacientes tratados con salicilatos. [Nota: el AAS es un ácido. Al pH gástrico, carece de carga eléctrica y llega fácilmente a las células de la mucosa, donde se ioniza (adquiere carga negativa) y queda atrapado, produciendo una posible lesión directa de dichas células. El AAS debe tomarse con los alimentos y un gran volumen de líquidos, para disminuir la dispepsia. Además, se puede tomar simultáneamente misoprostol o un IBP.] ⁽²¹⁾

b. Hematológicos: La acetilación irreversible de la ciclooxigenasa plaquetaria reduce la concentración de TXA₂ en las plaquetas, y esto inhibe la agregación de éstas y prolonga el tiempo de sangría. Por este motivo, no debe tomarse AAS durante la semana anterior a una intervención. Cuando se administran salicilatos, posiblemente hay que reducir la dosis de anticoagulantes, y es necesario controlar y aconsejar cuidadosamente al paciente. ⁽²¹⁾

c. Respiratorios: A dosis tóxicas, los salicilatos causan depresión respiratoria y una combinación de acidosis respiratoria y metabólica descompensada.

d. Procesos metabólicos: Las grandes dosis de salicilatos desacoplan la fosforilación oxidativa. La energía que normalmente se utiliza para producir trifosfato

de adenosina se disipa en forma de calor, y esto explica la hipertermia causada por los salicilatos cuando se toman en cantidades tóxicas. ⁽²¹⁾

e. Hipersensibilidad: Aproximadamente el 15% de los pacientes que toman AAS experimenta reacciones de hipersensibilidad. Los síntomas de alergia verdadera son urticaria, broncoespasmo o angioedema. Es raro el choque anafiláctico letal. ^(21, 25)

f. Síndrome de Reye: La administración de AAS u otros salicilatos en las infecciones víricas se ha asociado con una mayor incidencia del síndrome de Reye, que consiste en una hepatitis fulminante con edema cerebral, a menudo con desenlace fatal. Se observa especialmente en pediatría; por lo tanto, a estas edades hay que administrar paracetamol, en lugar de AAS, para reducir la fiebre. También es apropiado el ibuprofeno. ^(21, 25)

g. Interacciones farmacológicas: La administración simultánea de salicilatos con muchas clases de fármacos puede producir efectos adversos. Como el AAS puede hallarse en múltiples productos de venta sin receta, hay que aconsejar a los pacientes que lean el prospecto del preparado, para evitar las sobredosis. El salicilato está unido en un 80 a 90 % a las proteínas (albúmina) y puede desplazarse de su lugar de unión, con el consiguiente aumento de concentración del salicilato libre; alternativamente, el AAS puede desplazar a otros fármacos muy unidos a las proteínas, como la warfarina, la fenitoína o el ácido valproico, e inducir así el aumento de las concentraciones libres del otro fármaco. Hay que evitar el uso crónico de AAS en los pacientes que reciben probenecid o sulf inpirazona, pues estos fármacos aumentan la excreción renal de ácido úrico, mientras que el AAS (< 2 g/día) disminuye la depuración de dicho ácido. Está contraindicada la administración simultánea de ketorolaco y AAS por el incremento del riesgo de hemorragias GI e inhibición de la agregación plaquetaria. ^(21, 25)

h. En el embarazo: El AAS se incluye en la categoría C de riesgo de la FDA durante el primer y el segundo trimestres del embarazo, y en la categoría D durante el tercer trimestre. Como los salicilatos se excretan también por la leche, debe evitarse el AAS durante el embarazo y la lactancia. ^(21, 25)

1.4.6 Toxicidad

La intoxicación por salicilatos puede ser ligera o grave. La forma leve se denomina salicilismo y se caracteriza por náuseas, vómitos, intensa hiperventilación, cefalea, confusión mental, mareos y acúfenos. Al administrar dosis más elevadas de salicilatos puede producirse una intoxicación grave. Los síntomas antedichos van seguidos de agitación, delirio, alucinaciones, convulsiones, coma, acidosis respiratoria y metabólica y muerte por insuficiencia respiratoria. Los niños son especialmente propensos a la intoxicación por salicilato. La ingestión de cantidades tan pequeñas como 10 g de AAS (o 5 ml de salicilato de metilo, este último empleado como antiirritante en los linimentos) puede producir la muerte en la edad infantil. El tratamiento del salicilismo incluye la medición de las concentraciones séricas de salicilato y del pH para determinar el tratamiento más adecuado. En los casos leves suele ser suficiente un tratamiento sintomático. El aumento del pH urinario favorece la eliminación del salicilato. En los casos graves hay que recurrir a la hidratación i.v., diálisis (peritoneal o hemodiálisis) y valoración frecuente con corrección del equilibrio ácido-básico y electrolítico. ^(21, 25)

1.5 TOXICIDAD AGUDA DE PLANTAS MEDICINALES

1.5.1 Introducción

Las plantas son, sin duda, los agentes causantes de toxicidad aguda que se conocen desde los tiempos más remotos. Probablemente, una de ellas fue la responsable de la primera muerte por intoxicación en nuestros primeros antepasados y, desde ese momento hasta nuestros días, la relación del ser humano con la fitotoxicología ha seguido un tortuoso camino en que las plantas han representado muy distintos papeles. Aparte de su tradicional utilización como venenos de flecha (que presupone cierto grado de conocimiento de la toxicocinética y de la farmacodinamia de los tóxicos para evitar la intoxicación accidental al comer las piezas cazadas), que no se reduce únicamente a los pueblos amazónicos, las drogas vegetales entremezclan su toxicidad con la evolución humana en todas las culturas conocidas, enraizándose en ocasiones en lo más profundo de los mitos, la literatura y la música. ⁽¹¹⁾

La ingesta ritual de alucinógenos de origen vegetal con fines magicorreliгиозos tanto en Europa oriental [*Amanita muscaria* (L.) Lam., *Acorus calamus* L. y *Asarum*

europaeum L.] como en América [Banisteria caapi Spruce ex Griseb, *Lophophora williamsii* (Salm-Dyck) J. M. Coult., *Salvia divinorum* Epling & Jativa, *Rivea corymbosa* (L.) Hallier f. o *Psilocybe* sp. pl., entre otras], África (*Tabernanthe iboga* Baill) u Oceanía (*Piper methysticum* G. Forst.) se pierde en la noche de los tiempos y es practicada aún en ciertas comunidades indígenas marginales, pero también en ciertos círculos de la sociedad occidental pretendidamente esotéricos y en los cuales es fácil adivinar mayor componente recreativo y de abuso psicodélico que de cualquier otro tipo. Una poción elaborada con hojas de tejo (*Taxus baccata* L.) era usada por algunas tribus celtas antiguas para suicidios colectivos antes de entregarse al enemigo. Conocidos son también los casos de Sócrates (siglo v a.C.), en el cual la cicuta (*Conium maculatum* L.) se usó como veneno legal en la ejecución de la pena de muerte del filósofo, y la intoxicación masiva por miel contaminada con grayanotoxinas de *Rhododendron* que padeció el ejército de Ciro el Joven (400 a.C.) cuando invadió lo que hoy es Turquía.⁽¹¹⁾

En el Imperio romano gozó de merecida fama como envenenadora Agripina, mujer del emperador Claudio, al cual asesinó probablemente con un plato de *Amanita phalloides* Vaill ex Fr. mezclado con *Amanita caesarea* (Scop.) Pers. El oscurantismo religioso de la Edad Media no impidió que se siguiera avanzando en el conocimiento de la toxicidad de las plantas, principalmente a través del saber atesorado en los jardines medicinales de los conventos de las órdenes monacales y de la difusión de la cultura árabe, heredera en gran parte de la griega y de la romana. El Renacimiento (en el que Lucrecia Borja o Borgia, hija del papa Alejandro VI, es mencionada con frecuencia, de manera probablemente injustificada, como experta en el manejo de tóxicos) y el Siglo de las Luces posterior abonaron el terreno para la aparición de la moderna toxicología actual de la mano de Buenaventura Orfila, médico menorquín formado primero en Valencia y más tarde en la Sorbona de París.⁽¹¹⁾

Aunque la era industrial, con la aparición de productos químicos en general y de los medicamentos de síntesis en particular, ha diversificado las causas de intoxicación exógena, aún hoy las plantas continúan representando un porcentaje no desdeñable de los episodios tóxicos que son atendidos en los dispositivos sanitarios. La incidencia de intoxicación por plantas se cifra entre el 1 y el 7,2% en los diversos países europeos, y figura entre las cinco causas más frecuentes de intoxicación en Estados Unidos, con alrededor de 100.000 exposiciones por año. A pesar de esta elevada incidencia, la mortalidad en los países occidentales es baja, algo superior a 1/10.000 casos; este

porcentaje, sin embargo, se hace mucho más elevado en otros ámbitos geográficos y llega al 15% en Sudáfrica. ⁽¹¹⁾

En general, la población más afectada suele ser la infantil, por la atracción que sobre este sector ejercen los frutos coloreados o las plantas ornamentales del hogar; cerca del 85% de las exposiciones se producen en niños de menos de 11 años, y el restante 15% comprende los casos de confusión, de intoxicación voluntaria o de conductas homicidas. ⁽¹¹⁾

1.5.2 Toxicidad gastrointestinal

La toxicidad gastrointestinal, expresada principalmente en forma de vómitos y/o diarreas más o menos intensos, es el más ubicuo e inespecífico de los síntomas producidos por la toxicidad aguda de plantas y acompaña con frecuencia a otros síndromes más graves. En los apartados siguientes se verán los cuadros en los cuales la afectación digestiva es un mero acompañante de otros síntomas y se discutirán a continuación aquellos en que constituye la parte cardinal de la intoxicación. ⁽¹¹⁾

Un amplio grupo de plantas cuyo potencial tóxico reviste características irritativas gastrointestinales es el de las euforbiáceas. La mayor parte de las especies del género *Euphorbia* [*E. helioscopia* L., *E. characias* L., *E. cyparissias* L., *E. lathyris* L., *E. pulcherrima* (Willd. ex Klotzsch), *E. peplus* L., etc.], así como *Mercurialis* (*M. perennis*), *Croton* (*C. tiglium* L.) e *Hippomane* (*H. mancinella*), poseen ésteres del forbol o del ingenol capaces de provocar profusas diarreas. Suelen ser intoxicaciones autolimitadas y que sólo precisan reposo digestivo y mantenimiento hidroelectrolítico. ⁽¹¹⁾

Las plantas ricas en saponósidos provocan también cuadros gastroenteríticos generalmente leves. La fitolaca (*Phytolacca americana* L.), la hiedra (*Hedera helix* L.), el rusco (*Ruscus aculeatus* L.) o el castaño de Indias (*Aesculus hippocastanum* L.) podrían incluirse en este grupo. ⁽¹¹⁾

Otro grupo especial de plantas con marcada actividad irritante son algunas cucurbitáceas, entre las cuales pueden destacarse *Bryonia dioica* Jacq. (nueza), *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. (cohombriño amargo o pepinillo del diablo) y *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. (coloquintida). Los principios activos, de naturaleza triterpénica, poseen una fuerte acción purgante drástica, difícil de controlar, que ha marcado su uso tradicional. ⁽¹¹⁾

Por último, una planta muy frecuente en los jardines, la Lantana camara L. (verbena falsa), posee lantadeno, un compuesto triterpénico capaz de provocar también intoxicaciones de síntomas preferentemente digestivos. ⁽¹¹⁾

1.5.3 Toxicidad sobre el sistema cardiovascular

Las propiedades medicinales de algunas plantas con heterósidos cardiotónicos ya eran conocidas por los egipcios y los romanos, que las usaban como eméticos y diuréticos, pero su introducción real en la terapéutica se produjo en el último tercio del siglo xviii, cuando el médico inglés Withering comenzó a sistematizar el uso de la digital en cuadros hidrópicos. ⁽¹¹⁾

Los heterósidos cardiotónicos son sustancias de naturaleza compleja, cuya base es una genina esteroídica con un anillo lactónico de cinco miembros (heterósidos cardiotónicos cardenólidos) o de seis (heterósidos cardiotónicos bufadienólidos) que sustituye en C-17. Además, en C-3 se unen distintas cadenas azucaradas de una o varias unidades que, junto con la genina, definen los distintos heterósidos cardiotónicos. Unas pocas familias concentran las plantas con estos principios activos.

Los primeros síntomas de la intoxicación son, generalmente, de tipo digestivo (náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarreas). En ocasiones, en fases tempranas el paciente refiere percibir el característico halo amarillo alrededor de los objetos, ya descrito por Withering. ⁽¹¹⁾

Más tarde aparecen los síntomas cardíacos: bradicardia, bloqueos de distinto grado, arritmias auriculares o ventriculares. El electrocardiograma muestra prolongación del intervalo PR, acortamiento del QT y aplanamiento de las ondas P o T. La aparición de hipopotasemia complica el cuadro. No son raras las muertes. El tratamiento debe iniciarse con la administración repetida de carbón activado para interrumpir el ciclo enterohepático de los heterósidos cardiotónicos. Las arritmias y los bloqueos pueden requerir del uso de marcapasos si no ceden con los antiarrítmicos habituales (fenitoína y lidocaína). ⁽¹¹⁾

La aparición de hiperpotasemia debe ser controlada con cuidado y energicamente tratada por los procedimientos habituales (resinas de intercambio iónico, glucosa e insulina). Los casos más graves, con compromiso vital, pueden requerir la administración de anticuerpos Fab antidigoxina. ⁽¹¹⁾

1.5.4 Síndrome anticolinérgico

El síndrome anticolinérgico generalmente se asocia con diversas plantas de la familia de las solanáceas que contienen alcaloides tropánicos. Son plantas conocidas desde antiguo en Europa†, donde algunas de ellas (beleño o belladona) formaron parte de ungüentos de brujas, mientras que otras (mandrágora) se rodearon de un halo mágico de leyenda generalmente relacionada con demonolatrías. Tal era su difusión que Shakespeare hace que Hamlet mate a su padre con beleño e, incluso, la poción amorosa que ingirieron Tristán e Isolda pudo estar compuesta por solanáceas anticolinérgicas. Aún en la actualidad, de 442 consultas realizadas al Centro de Información Toxicológica español tras la exposición a plantas psicotrópicas, el 34,1% de los casos se referían a *Datura stramonium* L., el 7,3% a *Atropa belladonna* L., el 3,6% a *Hyoscyamus niger* L. y el 2,4% a *Mandragora officinarum* L. En general, los principios activos se localizan en toda la planta, pero son especialmente ricos en ellos las flores, los frutos y las semillas. ⁽¹¹⁾

Tras la ingesta de la planta, el inicio de acción es rápido, usualmente entre 30 y 60 min. Transcurrido este período, el síndrome anticolinérgico se manifiesta dualmente, en función de la dosis, a nivel periférico y central. A nivel periférico, se producen midriasis, piel caliente y seca, sequedad de mucosas, aspecto enrojecido, fiebre, retención urinaria, abolición de ruidos intestinales, taquipnea y taquicardia. En el sistema nervioso central, las solanáceas parasimpaticolíticas provocan agitación (que puede ser muy importante), alucinaciones visuales (en ocasiones terroríficas), habla ininteligible, letargia y coma con depresión respiratoria. ⁽¹¹⁾

El tratamiento debe iniciarse con la evacuación del tóxico, que puede demorarse hasta 24 h por el retraso en el vaciado gástrico que provocan los anticolinérgicos, y la administración de carbón activado. La taquicardia rara vez requiere tratamiento, pero la retención urinaria puede hacer necesario el sondaje vesical. La hipertermia también debe ser abordada agresivamente y la agitación debe controlarse con haloperidol o benzodiazepinas. Para las manifestaciones centrales se ha recomendado clásicamente la fisostigmina intravenosa, pero los riesgos asociados con su uso y la falta de un beneficio clínico claro hacen que su utilización deba considerarse con cuidado. ⁽¹¹⁾

1.5.5 Síndrome nicotínico

La exposición a plantas que contienen alcaloides piridínicos, piperidínicos o quinolizidínicos (nicotina, citisina, lobelina, anabasina o coniina) puede traducirse en efectos similares debido a un mecanismo de acción común que implica la activación y posterior bloqueo de los receptores nicotínicos[‡]. La activación de éstos en el sistema nervioso central puede producir convulsiones y coma, mientras que en los ganglios del sistema nervioso autónomo producirá una mezcla de efectos simpáticos y parasimpáticos (sialorrea, lagrimeo, sudoración, miosis, náuseas, vómitos, diarrea, broncoespasmo, bradicardia o taquicardia, hipertensión o hipotensión). Además, el efecto nicotínico sobre la placa motora terminal originará fasciculaciones, debilidad y parálisis posterior.⁽¹¹⁾

Las intoxicaciones por estas plantas revisten generalmente una elevada gravedad, aunque afortunadamente son raras. Una de las más frecuentemente producidas es la ingesta de cigarrillos o de colillas, que lógicamente tiene todas las características de la sobredosis de nicotina. Mucho menos frecuente es la intoxicación por *Nicotiana glauca* Graham, de la cual se conocen casos mortales. La absorción de la nicotina a través de la piel da lugar a la llamada enfermedad del tabaco verde, que se produce exclusivamente en los trabajadores que recolectan las hojas de la planta; los síntomas son banales (náuseas, vómitos, diarreas y debilidad) y cede con tratamiento sintomático.⁽¹¹⁾

Mucho más grave es la intoxicación por cicuta mayor (*Conium maculatum* L.), que se produce la mayor parte de las veces por confusión con otras umbelíferas comestibles (zanahoria, perejil o anís). Las manifestaciones se inician de manera temprana, y 1 o 2 h tras la ingesta del tóxico aparecen ardor en la boca, trastornos de la deglución y salivación, alteraciones visuales, vértigos, sed, frío, debilidad en las piernas, disminución de la sensibilidad, rabdomiólisis y parálisis muscular y del diafragma. En caso de dosis letales, los síntomas anteriores se presentan al cabo de pocos minutos, además de glosoplejia o parálisis de la lengua, midriasis, pesadez de cabeza, somnolencia, vértigos y diarreas. La muerte sobreviene por paro respiratorio central.⁽¹¹⁾

Excepción hecha del *Laburnum anagyroides* Medik., que tiene cierta presencia como ornamental en jardines, pero cuya toxicidad ha sido muy cuestionada, y la *Areca catechu* L., más problemática desde el punto de vista de su abuso crónico como masticatorio, las intoxicaciones por el resto de plantas nicotinérgicas son menos conocidas.⁽¹¹⁾

El tratamiento se basa fundamentalmente en la eliminación del tóxico (carbón activado y lavado gástrico) y en el mantenimiento de las funciones vitales: soporte de la ventilación, atropina para los síntomas muscarínicos, reposición hidroelectrolítica y benzodiazepinas para las convulsiones. ⁽¹¹⁾

1.5.6 Toxicidad por cianuro

Más de 2.600 especies de plantas poseen alguno de los 25 heterósidos cianogénicos conocidos y que, por hidrólisis enzimática, liberan ácido cianhídrico (HCN). La cantidad de tóxico liberada es muy variable, y depende tanto del heterósido de partida como de la planta en que se encuentre. El más conocido de ellos es el amigdalósido o amigdalina, presente en las semillas de diversas especies de Prunus y que proporciona el 6% de HCN en peso. ⁽¹¹⁾

Los síntomas de la intoxicación por plantas con heterósidos cianogénicos son bastante solapados y frecuentemente los primeros que aparecen son de tipo gastrointestinal: náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarreas. Más tarde aparecen ya los síntomas de la intoxicación por cianuro: cefalea, disnea, debilidad muscular, hipotensión, taquipnea, ataxia y fibrilación auricular, estupor, convulsiones y coma.

No se conocen datos de los valores de cianuro ni su relación con las muertes producidas en la serie más numerosa publicada hasta el momento, pero sí en un caso en el cual una paciente ingirió de 20 a 40 semillas de albaricoque y se obtuvo una concentración de cianuro de 3,2 mg/l, muy por encima de 1 mg/l, considerado ya altamente tóxico, aunque la paciente se recuperó sin secuelas. ⁽¹¹⁾

El tratamiento fundamental de la toxicidad por cianuro implica el mantenimiento de las funciones vitales. De manera adicional, puede usarse el tratamiento antidótico metahemoglobinizante clásico basado en los nitritos (nitrito de amilo inhalado hasta que se pueda administrar nitrito sódico intravenoso) para facilitar la unión del CN⁻ y la administración posterior de tiosulfato sódico para transformar el tóxico a tiocianato carente de toxicidad. Se ha sugerido también el uso de edetato de dicobalto (Kelocyanor®), pero puede producir hipertensión y arritmias cardíacas graves en ausencia del tóxico. En la actualidad es de elección, por su efectividad y seguridad, la hidroxicobalamina (Cyanokit®) a dosis elevadas (2,5-5 g) por su efectividad y seguridad, aunque la experiencia de su uso en la intoxicación por cianuro proveniente de plantas es aún escasa. ⁽¹¹⁾

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio de investigación científica se ubica dentro de los estudios experimentales, ya que manipuló variables y buscó consecuencias. La manipulación se dió a través de dosis crecientes y ver consecuencias en el proceso del dolor y la salud del roedor.

Además tiene el requisito de un grupo control que evidencia la manipulación.

2.2 ÁMBITO

La investigación teórica del problema de investigación se llevó a cabo en el Bioterio, Laboratorio de Farmacognosia y Bibliotecas de la Universidad Católica de Santa María.

2.3 TEMPORALIDAD

La presente investigación se llevó a cabo en un periodo de 6 meses de abril a setiembre del 2017.

2.4 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño corresponde al de varios grupos con grupo control post tratamiento.

2.5 POBLACIÓN Y MUESTRA

2.5.1 Población

No se aplica, ya que la investigación es preclínica en animales de laboratorio.

2.5.2 Muestra

La muestra estuvo conformada por dos tipos de unidades de estudio:

Unidad animal 1

Para la evaluación de la toxicidad la unidad animal estuvo conformada por 15 animales de experimentación tipo ratones de laboratorio, especie *Rattus rattus*.

Unidad animal 2

Para la evaluación del efecto analgésico la unidad animal estuvo conformada por 25 animales de experimentación tipo ratas de laboratorio, especie *Rattus rattus*.

2.6 MATERIALES

2.6.1 Material de vidrio

- Balón
- Embudo
- Matraz Erlenmeyer de 100mL
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL.
- Probetas graduadas de vidrio de 50 y 100 mL.
- Tubos de ensayo
- Capilares sin heparina
- Cubas de desarrollo cromatográfico
- Vasos de precipitados o Beaker de 10, 50 y 100 mL.
- Varillas de vidrio macizo

2.6.2 Equipos de laboratorio

- Cocinilla eléctrica

- Balanza analítica
- Refrigerífico
- Balanza gramera
- Equipo de destilación Soxhlet
- Equipo de Rotavapor
- Estufa para desecación
- Balanza marca Dakota 1200g / 0.1g
- Lámpara UV

2.6.3 Reactivos

- Agua destilada
- Alcohol etílico
- Vainillina
- Ácido sulfúrico
- Ácido fórmico
- Metanol
- Cloruro de aluminio
- Cloruro férrico
- Reactivo de Dragendorff
- Ácido acético
- Formaldehido

2.6.4 Otros materiales

- Placas se sílica gel
- Trípode
- cepo

- rejilla
- Barbijo
- Jaulas para ratones
- Gorro descartable
- Foco calorífico de 60 Watts

2.7 MÉTODOS

2.7.1 Preparación de la droga

2.7.1.1 Recolección

La recolección se realizó en la localidad de Cotahuasi, Puyca esta ubicada a 10 horas de la Ciudad de Arequipa a 371.5 km, la recolección se hizo de ejemplares en estado silvestre a las 8 de la mañana aproximadamente. Anexo 3



Figura 4. Recolección de Coreopsis fasciculata (Puki)

2.7.1.2 Identificación

Posterior a la recolección se llevó un ejemplar completo a la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín, para su identificación botánica y su clasificación taxonómica. Anexo 3

2.7.1.3 Selección

Para el procesado de la droga recolectada, se seleccionó las sumidades floridas correspondientes a la especie (*Coreopsis fasciculata*), retirándose todo lo ajeno a nuestro material de estudio, y también se retiró las sumidades floridas en mal estado.

2.7.1.4 Estabilización

Las sumidades floridas de puki, (*Coreopsis fasciculata*), consisten en delgadas ramas con pequeñas hojas, la estabilización fue realizada en calor seco utilizando como instrumento una estufa, el proceso fue llevado a 100° C, durante aproximadamente 2 minutos.

2.7.1.5 Dsecación

La dsecación de nuestra droga fue también en atención sus características, esta dsecación fue mediante calor artificial utilizando como instrumento también la estufa, este proceso fue a 50°C y tomo alrededor de unas 4 horas cada tanda de dsecación.

2.7.1.6 Trituración

La trituración del puki (*Coreopsis fasciculata*) fue mediante trituración mecánica, se utilizó el método de trituración mediante cizallas, sin embargo, para ello se utilizó un artefacto domestico que mimetiza este método de trituración farmacéutico y fue una licuadora, el grado de trituración fue semi fino.

2.7.2 Obtención del extracto de puki

La extracción de las sumidades floridas de puki (*Coreopsis fasciculata*) se realizó utilizando el equipo de extracción Soxhlet, es decir, se utilizó un método de extracción continuo.

Fundamento

Es un método de extracción continuo que se utiliza para materiales sólidos. Consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho de celulosa que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte a un balón de destilación y por otra a un refrigerante. El disolvente contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo el material. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material.(fundamentos teórico prácticos química orgánica)



Figura 5. Extracción mediante Soxhlet de *Coreopsis fasciculata* (Puki)

Procedimiento

Se pesó 14 gramos de sumidades floridas trituradas de puki (*Coreopsis fasciculata*), se humectaron con el disolvente con la ayuda de un vaso precipitados, ya más o menos húmeda la muestra se colocó en un envoltorio de papel filtro, este fue atado con una cuerda y se colocó en el tubo de extracción del equipo Soxhlet, en el balón del equipo se colocó 150 ml de disolvente. Armado todo el equipo se procedió a la extracción hasta el agotamiento del material vegetal.

2.7.3 Cromatografía en capa fina

La CCF se realiza utilizando sistemas de disolventes y reactivos reveladores correspondientes para cuatro tipos de metabolitos secundarios importantes, tales como reacción general y sustancias terpenicas, flavonoides, taninos y alcaloides.

2.7.3.1 General

La reacción general comprendió el uso de la siguiente fase móvil:

- Acetato de etilo (97)
- Metanol (a)
- Agua (10)

El revelador utilizado fue el reactivo vainillina – ácido sulfúrico. Este está compuesto por una solución etanólica de vainillina al 1% y una solución etanólica de ácido sulfúrico concentrado al 5%.

Se procedió pulverizando sobre la placa con la primera solución, luego con la solución de ácido sulfúrico y se procedió a la lectura bajo luz UV a 254 nm.

2.7.3.2 Sustancias terpénicas

La identificación de sustancias terpénicas comprendió el uso de la siguiente fase móvil:

- Acetato de etilo (5)
- Tolueno (95)

El revelador utilizado fue el reactivo de Liebermann Burchard. Este está compuesto por una mezcla de ácido acético y ácido sulfúrico concentrado al 20% en partes iguales en etanol como disolvente.

Se procedió pulverizando sobre la placa y luego de 10 minutos se observa bajo luz UV a 254 nm.

2.7.3.3 Flavonoides

La identificación de flavonoides comprendió el uso de la siguiente fase móvil:

- Acetato de etilo (100)
- Ácido acético (11)
- Ácido fórmico (11)
- Agua (26)

El revelador utilizado fue el reactivo de cloruro de aluminio. Este está compuesto por solución etanólica de cloruro de aluminio al 1%.

Se procedió pulverizando sobre la placa y luego de 10 minutos se observa bajo luz UV a 365 nm.

2.7.3.4 Taninos

La identificación de taninos comprendió el uso de la siguiente fase móvil:

- Metanol (70)
- Agua (30)

El revelador utilizado fue el reactivo de cloruro férrico. Este está compuesto por solución etanólica de cloruro férrico al 1%.

Se procedió pulverizando sobre la placa y luego de 10 minutos se observa bajo luz visible.

2.7.3.5 Alcaloides

La identificación de alcaloides comprendió el uso de la siguiente fase móvil:

- Ácido acético (70)
- Metanol (10)
- Agua (20)

El revelador utilizado fue el reactivo de Dragendorff. Este está compuesto por solución denominada A, consistente en 0.85 g de nitrato básico de bismuto disuelto en 10 ml de ácido acético y 40 ml de agua destilada tibia; y por una solución denominada B, compuesta por 8 g de yoduro de potasio disuelto en 30 ml de agua destilada. Luego estas dos soluciones se mezclan en partes iguales. El reactivo final estuvo constituido por 1 ml de esta última solución con 2 ml de ácido acético y 10 ml de agua destilada.

Se procedió pulverizando sobre la placa y luego de 10 minutos se observa bajo luz visible.

2.7.4 Evaluación del efecto analgésico

Las sumidades floridas de puki (*Coreopsis fasciculata*) fueron evaluadas en cuanto a su efecto analgésico mediante dos métodos, previo a su descripción de cada uno de estos métodos se explicaran las consideraciones que se tuvo antes de su aplicación.

2.7.4.1 Estandarización de la unidad animal 1

La unidad animal 1 estuvo conformada por ratas de laboratorio pertenecientes a la especie *Rattus rattus*, esta unidad tuvo que ser estandarizada para que participen en el estudio en las mismas condiciones. Se determinó su peso y se las identificó, pintando a propósito partes de su cuerpo a conveniencia.

Para la estandarización se les dio alimentación balanceada la misma a todos los animales, del mismo modo y agua a disposición. Todas ellas nacen y se reproducen en el bioterio por lo que viven en las mismas condiciones de cautiverio con las mismas horas de luz natural y noche.

2.7.4.2 Distribución de la unidad animal 1 en grupos experimentales

Ya determinado su peso e identificación, se colocaron conforme sus marcas en papelitos para realizar un sorteo y de ese modo conformar los grupos experimentales quedando al final como sigue:

- ❖ Grupo control: De 5 animales (ratas) de laboratorio a los que se les administró vía oral suero fisiológico.

- ❖ Grupo Extracto 200 piloto de mayor efecto: De 5 animales (ratas) de laboratorio a los que se les administró vía oral una dosis de 200 mg/kg de extracto seco de *Coreopsis fasciculata* o “puki”.
- ❖ Grupo Extracto piloto 400 de mayor efecto: De 5 animales (ratas) de laboratorio a los que se les administró vía oral una dosis de 400 mg/kg de extracto seco de *Coreopsis fasciculata* o “puki”.
- ❖ Grupo Extracto 800 piloto de mayor efecto: De 5 animales (ratas) de laboratorio a los que se les administró vía oral una dosis de 800 mg/kg de extracto seco de *Coreopsis fasciculata* o “puki”.
- ❖ Grupo control farmacológico: De 5 animales (ratas) de laboratorio a los que se les administró vía oral ácido acetilsalicílico 100 mg/kg.

Este modo de distribución se realizó tanto para el método térmico como para el químico, con la salvedad que luego de la realización del primer método se procedió a sortear otra vez para aleatorizar para el segundo método.

2.7.4.3 Método químico mediante formalina

El estímulo doloroso se inducirá mediante la administración subcutánea de una solución de formalina al 2.5% en la pata izquierda de la rata. En este test se distinguen dos fases: Fase 1, indicativa de dolor neurogénico (primeros 5 minutos) y Fase 2, indicativa de dolor inflamatorio (15-30 minutos después de la administración de la formalina). Se observaran durante los 30 primeros minutos y se recolectara la información relacionada al tiempo total (acumulado) en segundos durante el cual el animal se lame la pata.

Entorno de la investigación

- Realizar la experimentación en un ámbito calmo, lejos de ruidos, excesiva presencia humana y con luz natural o artificial blanca.
- Disponer de una caja de 40 x 40 x 40 cm, colocar en la superficie de la caja un espejo con un Angulo de 45° y otro justo en la pared de frente. Ello con la finalidad de mejorar la observación del animal.

Procedimiento

- Someter a los animales a un periodo previo de 15 días de condiciones estándares de experimentación, misma comida agua a disposición.
- Doce horas antes de la experimentación prescindir de cualquier comida salvo el agua de beber.
- Distribuir a los animales en los grupos experimentales correspondientes.
- Administrar los tratamientos correspondientes. Para el caso del grupo control positivo administrar tramadol a una dosis de 10 mg/kg. Como control negativo 3ml de suero fisiológico.
- A la media hora de administrados los tratamientos administrar mediante inyección subcutánea 50 μ L de una solución de formalina al 2.5%, en la zona subplantar de la pata trasera derecha.
- Colocar al animal inmediatamente en la caja transparente y observar su comportamiento durante dos fases la primera de 0-5 minutos y la segunda entre los 15-30 minutos de colocado el animal.
- Observar y calificar la respuesta al dolor en estas fases mediante la observación de las siguientes conductas:
 - 1: El animal no puede tolerar su peso sobre la pata inyectada o evitar pisar esa pata, cuidar la pata.
 - 2: El animal levanta la pata dolorosa y no tiene contacto con el suelo de la caja.
 - 3: El animal se lame la uña dolorosa, registra el número de lamidos de la pata. Se mastica o mueve la pata severamente.



Figura 6. Estimulación Doloroso Químico

2.7.4.4 Método térmico con foco calorífico

Para evaluar la actividad analgésica mediante el método térmico que utiliza foco calorífico según D'Amour y Smith, y consistió en exponer la porción más baja o distal de la cola del animal emanado por un foco de 60 watts. Para ello se utilizaron ratas albinas de laboratorio. Luego de administrados los tratamientos se medirán los tiempos de retirada de la cola a los 30, 60 y 120 minutos.

Entorno de la investigación

- La experimentación se realizó en un ámbito calmo, lejos de ruidos, excesiva presencia humana y con luz natural o artificial blanca.
- Disponer el foco calorífico de 60 Watts, con su interruptor correspondiente, en una superficie que permita su manipulación, impidiendo su rotura.
- Los animales fueron colocados sobre el foco de 60 Watts (luz amarilla caliente), de tal modo que su cola quede pendiendo del cuerpo.

Procedimiento

- Someter a los animales a un periodo previo de 15 días de condiciones estándares de experimentación, misma comida agua a disposición.
- Doce horas antes de la experimentación prescindir de cualquier comida salvo el agua de beber.
- Distribuir a los animales en los grupos experimentales correspondientes.
- Administrar los tratamientos correspondientes mediante sonda orogastrica. Para el control positivo administrar ácido acetilsalicílico a una dosis de 100 mg/kg. Como control negativo 3ml de suero fisiológico.
- Encender el foco diez minutos antes de cada observación.
- Colocar al animal sobre el foco calorífico, acercado su cola a la fuente de calor a unos 10 cm, a los 30, 60, 90 y 120 minutos de administrado el tratamiento.
- Contabilizar el tiempo transcurrido desde que la cola se acerca al foco hasta su retiro por inquietud del animal ante el estímulo doloroso térmico.



Figura 7. Estimulación Dolorosa Térmica

2.7.5 Evaluación de la toxicidad aguda, DL50

La determinación de la DL50 utiliza ratones albinos de laboratorio, los que previo al experimento alimentados y cuidados en condiciones estándares, tal como se describe a continuación, se incrementaran dosis mayores en forma creciente y fueron las siguientes 1600 mg/kg, 2400 mg/kg, 3200 mg/kg y 4000 mg/kg.

2.7.5.1 Estandarización de la unidad animal 2

Se seleccionaron animales jóvenes, sanos los que fueron marcados para su identificación según peso corporal y signos de toxicidad. Para su estandarización permanecieron en sus jaulas de estudio en forma individual 5 días antes del estudio.

Todos estuvieron bajo las mismas horas de luz natural y noche. Fueron alimentados mediante dieta estándar y agua a disposición. 6 horas antes de la administración se sometió al animal a ayuno, sin retirar el agua.

Además el manejo de animales de experimentación se realizó teniendo en cuenta la Ley N° 30407, Ley de Protección y Bienestar Animal y además la Guía de Manejo y Cuidado de animales de Laboratorio, emitido por el Ministerio de Salud a través del Instituto Nacional de Salud.

2.7.5.2 Calculo de dosis

La dosis fue calculada según la etapa en relación al peso corporal del animal. Previamente se conformó los grupos al azar. Una vez calculada se disolvió o suspendió en agua destilada y se administró mediante cánula intragástrica. Para esta administración se consideró que en los roedores el volumen máximo permitido para soluciones acuosas es de 2ml/100g de peso corporal.



Figura 8. Administración de la Dosis Tóxica

2.7.5.3 Procedimiento

Para la determinación de la DL50 utiliza ratones albinos de laboratorio del sexo macho, por vía oral se administró tres dosis crecientes de extracto de 1600 mg/kg, 2400 mg/kg y 3200 mg/kg. Repartidos en tres etapas. En cada etapa se trató de grupos de animales distintos.

Etapa 1: En la primera etapa se evaluó sobre 5 ratones, a una dosis de 1600 mg/kg, esta dosis es el doble de la dosis máxima evaluada en el presente estudio. Si en esta etapa solo existe una muerte se pasa a la etapa 2, si ocurre más de 1 muerte termina el estudio.

Etapa 2: En la segunda etapa se evaluó sobre 5 ratones, a una dosis de 2400 mg/kg, esta dosis es el triple de la dosis máxima evaluada en el presente estudio. Si en esta etapa solo existe una muerte se pasa a la etapa 3, si ocurre más de 1 muerte termina el estudio.

Etapa 3: En la tercera etapa se evaluó sobre 5 ratones, a una dosis de 3200 mg/kg, esta dosis es el cuádruple de la dosis máxima evaluada en el presente estudio. Esta es la etapa final.

Se observó los siguientes signos de toxicidad aguda inmediatamente después de la administración y luego de 14 días. La observación no se realizó en periodos fijos es decir al 4 o 7 día. Sino constantemente al menos dos veces al día ya que las manifestaciones o la latencia de los signos de toxicidad pueden ser muy variables. Se recogerán la frecuencia y tiempo de aparición de los signos, ello según la ficha de

recolección de datos que se encuentra en la sección anexos, parte final del presente estudio de investigación.



Figura 9. Evaluación de toxicidad aguda



Figura 10. Seguimiento de la evaluación toxica aguda en ratones.

2.7.6 Métodos estadísticos

Para el análisis descriptivo de grupos se utilizaran el promedio y la mediana, desviación estándar, varianza, mínimo, máximo y rango. Para la comparación de grupos se

utilizaran Anovas de un factor y de dos factores y sus correspondientes Test de Tukey.
Para la DL 50 los Probits.



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE PUKI

La obtención del extracto de *Coreopsis fasciculata* o “puki” involucro tal como se describió en las metodologías, el acondicionamiento de las sumidades floridas hasta la obtención de droga pulverizada. Luego de ello se procedió a la extracción con tres distintos disolventes, este proceso fue hasta agotamiento total de la droga, y se realizó por triplicado, los resultados se exponen a continuación.

La acción del extracto total parece ser mayor que la de los principios activos aislados, lo que hace pensar que su efecto analgésico-antiinflamatorio se debe a la acción sinérgica de varios componentes. En este sentido hay que señalar que los β -sitosteroles inhiben la prostaglandina-sintetasa, que participa en los procesos inflamatorios. ⁽⁸⁾

TABLA N° 1
RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION SEGÚN TIPO DE DISOLVENTE

Tipo de disolvente	Cantidad media de s.f. puki (g)	Cantidad media de extracto final seco (g)	Rendimiento medio de la extracción (%)
Alcohol etílico	14	4.39	31.35
Cloroformo	14	2.02	14.43
Éter de petróleo	14	1.09	7.79

Fuente: Registro de investigación propios

La tabla N° 1 muestra el rendimiento de la extracción según tipo de disolvente, observamos que el alcohol etílico utilizado como disolvente para la extracción con equipo Soxhlet brindo mayor rendimiento, con un 31.35%.

3.2 ENSAYO FITOQUÍMICO PRELIMINAR

El ensayo fitoquímico preliminar se realizó mediante cromatografía en capa fina y se practicó sobre el extracto etanólico, ya que este en la evaluación piloto resultó ser más eficaz preliminarmente. En primer lugar se hizo la identificación general, luego de pulverizar la placa con el reactivo vainillina – ácido sulfúrico se observó bajo luz ultravioleta, observando manchas color morado, azul y una verdosa, que es indicativo para terpenos. Se expone la figura del cromatofolio destacando las manchas así como los Rf correspondientes.

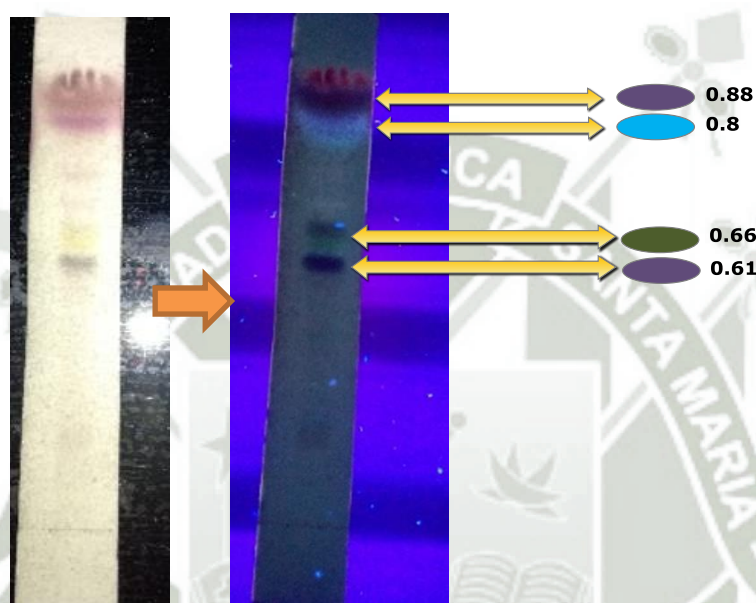


Figura 11. Identificación general

Para la identificación de terpenos luego de rociar la placa con el reactivo de Liebermann Burchard se observó bajo el UV, manchas rosas y azul verdosas, que se relacionan con sustancias tipo saponinas y esteroides, la figura del cromatofolio destaca estas manchas así como sus Rfs.

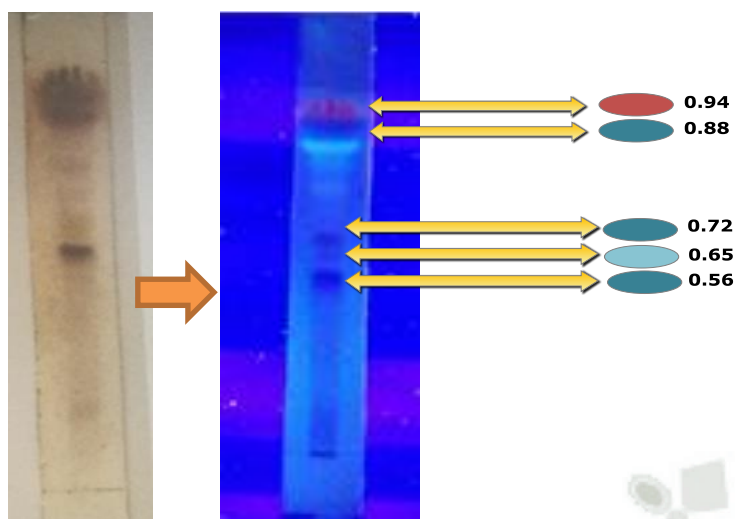


Figura 12. Identificación de terpenos

Para la identificación de flavonoides luego de rociar la placa con el reactivo de Cloruro de aluminio se observó bajo el UV, manchas amarillo fluorescentes, que se relacionan con este tipo de sustancias, la figura del cromatofolio destaca estas manchas así como sus Rfs.

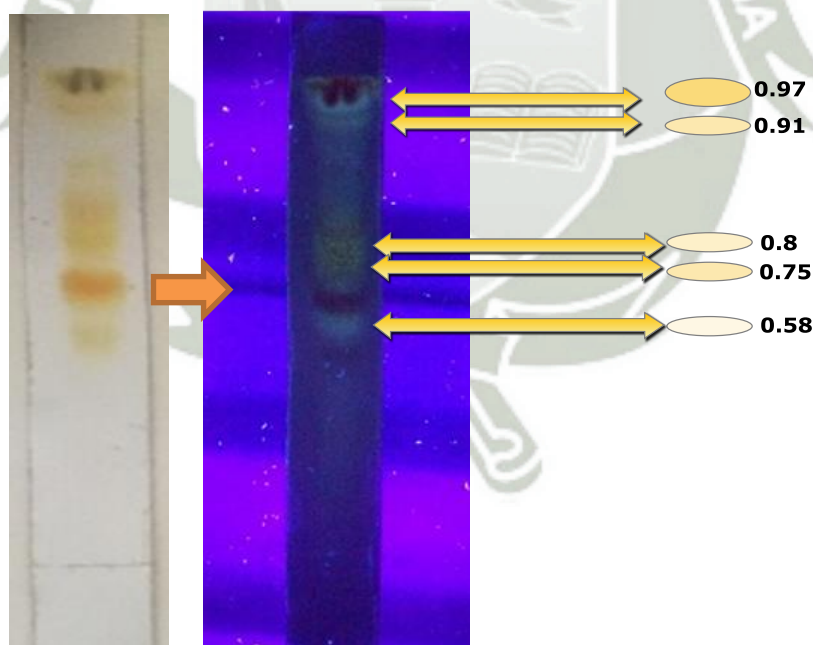


Figura 13. Identificación de flavonoides

En cuanto a los alcaloides que se roció la placa con el reactivo de Dragendorff, no se observó mancha alguna ni bajo luz UV y luz visible, este ensayo se reiteró y no se

observó mancha alguna por lo que en cuanto a este tipo de metabolito secundario señalamos que es negativo.

Para la identificación de taninos luego de rociar la placa con el reactivo de Cloruro férrico se observó en luz visible, una mancha marrón característico para este tipo de sustancias, la figura del cromatofolio destaca esta mancha así como su Rf.

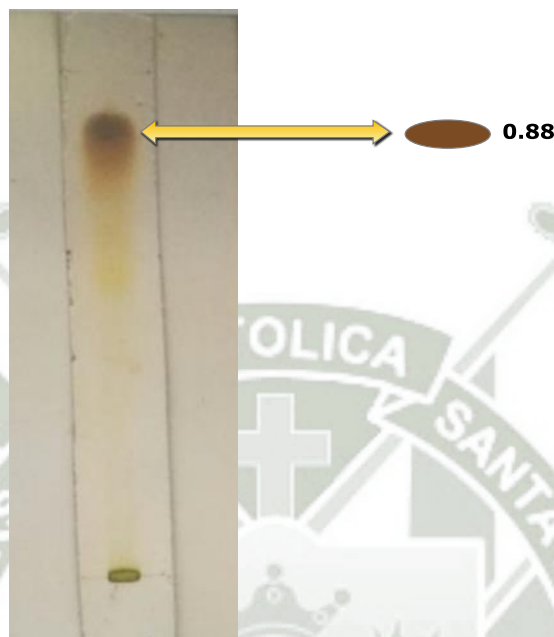


Figura 14. Identificación de taninos

Un estudio más cercano que apoya nuestros resultados es la Evaluación de la actividad analgésica local del extracto metanólico, etéreo y el gel de las hojas de *Baccharis scandens* (chilca) comparados con gel de diclofenaco en animales de experimentación,⁽⁴⁵⁾ si bien se trata de un estudio de efecto analgésico local, en este se evaluó una Asteracea, familia a la que también pertenece nuestra planta medicinal bajo estudio, en esta investigación también se detectaron compuestos de naturaleza terpenica y flavónica.

3.3.EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA

Previo a evaluar el efecto analgésico de las sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* o “puki”, los animales de experimentación fueron sometidos a un periodo de estandarización, posteriormente a ello se procedió a identificarlos y registrar sus pesos, ello con la finalidad de asignarles al azar su grupo experimental correspondiente, y la dosis individual del tratamiento, tal como se aprecia en la tabla N° 1.

3.2.1 Evaluación analgésica según el test de Formalina

TABLA N° 2
IDENTIFICACIÓN Y PESOS CORPORALES DE LOS ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN

N°	Descripción	Peso corporal (g)
1	Cabeza pata posterior izquierda	261g
2	Cabeza pata posterior derecha	238g
3	Cabeza pata anterior izquierda	245g
4	Cabeza pata anterior derecha	221g
5	Dorso	209g
6	Cola	229g
7	Cabeza	230g
8	Cuatro patas	228g
9	Pata anterior derecha	260g
10	Pata anterior izquierda	266g
11	Pata posterior derecha	207g
12	Pata posterior izquierda	190g
13	Patatas izquierdas	250g
14	Patatas derechas	247g
15	Patatas posteriores	249g
16	Patatas delanteras	259g
17	Cabeza dorso	217g
18	Cabeza dorso cola	261g
19	Cola pata posterior izquierda	236g
20	Cola pata posterior derecha	241g
21	Cola pata anterior izquierda	216g
22	Cola pata anterior derecha	212g
23	Cabeza cola	235g
24	Dorso cola	254g
25	Sin marcas	237g

Fuente: Registro de investigación propios

Posteriormente se procedió a asignar los grupos de tratamiento al azar, y al cálculo de dosis según tratamiento, además de aspectos descriptivos en cuanto al peso corporal de la muestra.

TABLA N° 3
GRUPOS EXPERIMENTALES Y DOSIS ADMINISTRADA SEGÚN PESO
CORPORAL PARA EL TEST DE FORMALINA

Grupos distribución aleatoria	Descripción	Peso corporal (g)	Ml de extracto
Control negativo: Suero fisiológico 0.9%	Cabeza pata posterior izquierda	261g	3ml
	Dorso	209g	3ml
	Pata anterior izquierda	266g	3ml
	Patas izquierdas	250g	3ml
	Sin marcas	237g	3ml
Dosis mínima: 200 mg/Kg extracto Coreopsis fasciculata o "puki"	Patas derechas	247g	1.13ml
	Cuatro patas	228g	1.03ml
	Cabeza pata posterior derecha	238g	1.08ml
	Cabeza dorso	217g	0.98ml
	Cabeza dorso cola	261g	1.17ml
Dosis media: 400 mg/Kg extracto Coreopsis fasciculata o "puki"	Cabeza pata anterior derecha	221g	2.01ml
	Cabeza pata anterior izquierda	245g	2.23ml
	Patas posteriores	249g	2.26ml
	Patas delanteras	259g	2.35ml
	Cola pata anterior derecha	212g	1.93ml
Dosis máxima: 800 mg/Kg extracto Coreopsis fasciculata o "puki"	Pata posterior izquierda	190g	3.46ml
	Cola	229g	4.17ml
	Cabeza	230g	4.19ml
	Dorso cola	254g	4.62ml
	Pata anterior derecha	260g	4.73ml
Control positivo: Tramadol 10 mg/Kg	Cabeza cola	235g	2.35ml
	Pata posterior derecha	207g	2.07ml
	Cola pata posterior derecha	241g	2.41ml
	Cola pata anterior izquierda	216g	2.16ml
	Cola pata posterior izquierda	236g	2.36ml

Fuente: Registro de investigación propios

Una vez que se distribuyó la muestra se procedió a la evaluación mediante el método químico, se trabajó con el extracto etanólico, ya que en la evaluación piloto el grupo tratado mostro mayor eficacia analgésica en comparación con el grupo control.

La tabla N° 3 también recoge los ml de la dosis de extracto administrados a los animales según su peso corporal. Para la preparación de la dosis fue necesaria la disolución del extracto seco en agua con la ayuda de Tween 20 como codisolvente. Este procedimiento también fue realizado del mismo modo para la evaluación piloto, que tuvo por finalidad evaluar los tres extractos según tipo de disolvente.

A continuación, los resultados de la evaluación piloto. Cabe precisar que en esta evaluación solo se evaluó mediante el método del foco calorífico, y se presenta los resultados del Test de Tukey en la tabla siguiente, es importante también indicar que el análisis estadístico llevado a cabo para esta evaluación fue el mismo que la evaluación final que fue un Anova de dos factores.

TABLA N° 4
EFFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY DE LA PRUEBA PILOTO, MÉTODO FOCO CALORÍFICO

Grupos de tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
Grupo Control Negativo	3	34,92	
Grupo Extracto Éter etílico	3	35,83	
Grupo Extracto Cloroformo	3	37,33	
Grupo Extracto Etanólico	3		44,75
Sig.		,224	1,000

Fuente: Registro de investigación propios

El test de Tukey realizado cuyos resultados resumidos de los subconjuntos homogéneos que se muestra en la tabla N° 4, muestra que el grupo tratado con extracto etanólico a una dosis de 800 mg/kg es el que tiene mayor eficacia, ya que es distinto del grupo control y con un promedio de tiempo de lamidos mayor. En cuanto a los grupos tratados con extracto con cloroformo y éter etílico también ambos a dosis de 800 mg/kg tienen una similitud estadística con el grupo control, por lo que no se observa eficacia analgésica.

Una vez que se volvió a distribuir la muestra después de un periodo prudencia se inició la evaluación definitiva, para ello se trabajó solo con el extracto que utilizó como disolvente etanol. Se procedió a la evaluación mediante el método químico, se trabajó con el extracto etanólico, ya que en la evaluación piloto el grupo tratado mostro mayor eficacia analgésica en comparación con el grupo control.

TABLA N° 5
EFEECTO ANALGÉSICO: DESCRIPCION DE LA FASE AGUDA 0-5 MINUTOS
SEGÚN EL TEST DE FORMALINA

Grupos de tratamiento	N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Rango	Desviación estándar
Grupo Control Negativo	5	61.8000	60.0000	52.50	72.00	19.50	7.89462
Grupo Dosis Mínima	5	64.8000	58.5000	52.50	97.50	45.00	18.50540
Grupo Dosis Media	5	69.9000	66.0000	58.50	97.50	39.00	15.89575
Grupo Dosis Máxima	5	64.5000	60.0000	45.00	93.00	48.00	20.18044
Grupo Control Positivo	5	15.3000	13.5000	7.50	24.00	16.50	6.98749
Total	25	55.2600	58.5000	7.50	97.50	90.00	24.66911

Fuente: Registro de investigación propios

Los resultados de la tabla 2 referido al efecto analgésico, según el test de formalina, que registra el tiempo total en segundos durante el cual se registró las lamidas de los animales, se observa que el grupo con mayor tiempo de lamidas corresponde al grupo tratado con una dosis media y el grupo con menor tiempo en lamidos corresponde al grupo tratado con un agente farmacológico como el tramadol (grupo control positivo).

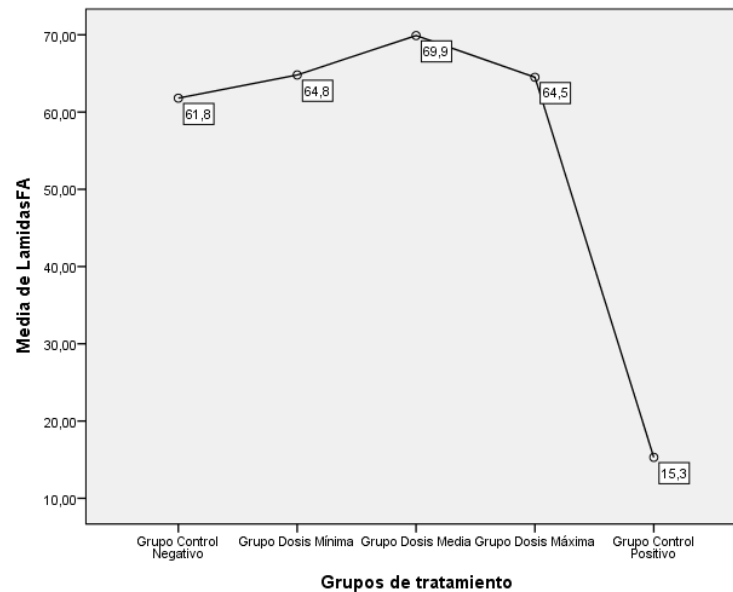


Figura 15. Gráfico de la fase aguda 0-5 min según el test de formalina.

En el campo, es decir, durante la ejecución de nuestra investigación está marcada diferencia con el grupo control positivo fue muy evidente ya que se observó directamente que los animales que recibieron este tratamiento – y que también se aprecia en el gráfico de promedios que se presenta – se lamian con menor frecuencia y por lo tanto era de esterarse que tendrían un menor tiempo de registro total de lamidos, pese a ello, es imprescindible un análisis estadístico que nos corrobore – o defina – en base a un resultado las diferencias entre los grupos experimentales, razón por la cual se procedió a realizar un análisis de varianza de un factor.

El análisis de varianza de un factor que se realizó para el efecto analgésico según el test de formalina, en la fase aguda señala según la tabla de resultados N°3 – bajo un nivel del confianza del 95% - que existen diferencias significativas entre los distintos grupos experimentales.

Se afirma que en este test, la primera fase refleja un loro nociceptivo (que en nuestro estudio se denomina fase aguda) debido a la irritación química de la formalina subcutánea y su segunda fase (que se denomina fase crónica), un dolor de origen inflamatorio. ⁽³¹⁾ La reacción al dolor en ambas fases se evaluó observando las lamidas que realiza en animal en la pata intervenida, si bien es cierto, algunos autores afirman que uno de los inconvenientes técnicos de este test es que tiene un periodo de observación breve por cada animal y requiere de gran concentración y paciencia. ⁽⁴⁷⁾

TABLA N° 6
EFFECTO ANALGÉSICO: ANOVA DE UN FACTOR DE LA FASE AGUDA 0-5
MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	10151,460	4	2537,865	11,396	,000
Dentro de grupos	4454,100	20	222,705		
Total	14605,560	24			

Fuente: Registro de investigación propios

El test de Tukey realizado como prueba de especificidad y cuyos resultados resumidos de los subconjunto homogéneos que se muestra en la tabla N° 4, indica que durante la fase aguda 0-5 minutos, del test de formalina ninguno de los grupos de tratamiento muestra efecto significativo y diferente del grupo control, por lo que ningún grupo experimental – salvo el control positivo – muestra eficacia analgésica. Esto dista del grupo control positivo que consistió en la administración de 10 mg/Kg de tramadol, en donde se observa que es el único grupo durante esta fase que presenta un efecto analgésico.

TABLA N° 7
EFFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY DE LA FASE AGUDA 0-5 MINUTOS
SEGÚN EL TEST DE FORMALINA

Grupos de tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Grupo Control Positivo	5	15.3000	
Grupo Control Negativo	5		61.8000
Grupo Dosis Máxima	5		64.5000
Grupo Dosis Mínima	5		64.8000
Grupo Dosis Media	5		69.9000
Sig.		1,000	,909

Fuente: Registro de investigación propios

TABLA N° 8
EFFECTO ANALGÉSICO: DESCRIPCION DE LA FASE CRÓNICA 15-30
MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA

Grupos de tratamiento	N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Rango	Desviación estándar
Grupo Control Negativo	5	65.1000	67.5000	49.50	84.00	34.50	13.77225
Grupo Dosis Mínima	5	74.1000	72.0000	52.50	94.50	42.00	18.63263
Grupo Dosis Media	5	69.9000	73.5000	46.50	82.50	36.00	14.29336
Grupo Dosis Máxima	5	34.2000	31.5000	21.00	46.50	25.50	9.74423
Grupo Control Positivo	5	5.7000	6.0000	1.50	10.50	9.00	3.58120
Total	25	49.8000	52.5000	1.50	94.50	93.00	29.21151

Fuente: Registro de investigación propios

Los resultados de la tabla 4 referido al efecto analgésico, según el test de formalina, correspondiente a la observación durante la fase crónica 15-30 minutos después de administración de la formalina, se observa que el grupo con mayor tiempo de lamidas corresponde al grupo tratado con una dosis mínima y el grupo con menor tiempo en lamidos corresponde al grupo tratado con un agente farmacológico como el tramadol (grupo control positivo), en estos resultados sin embargo, se aprecia al grupo con dosis máxima (800 mg/Kg extracto de puki), con un tiempo de lamidas de 34.2 segundos.

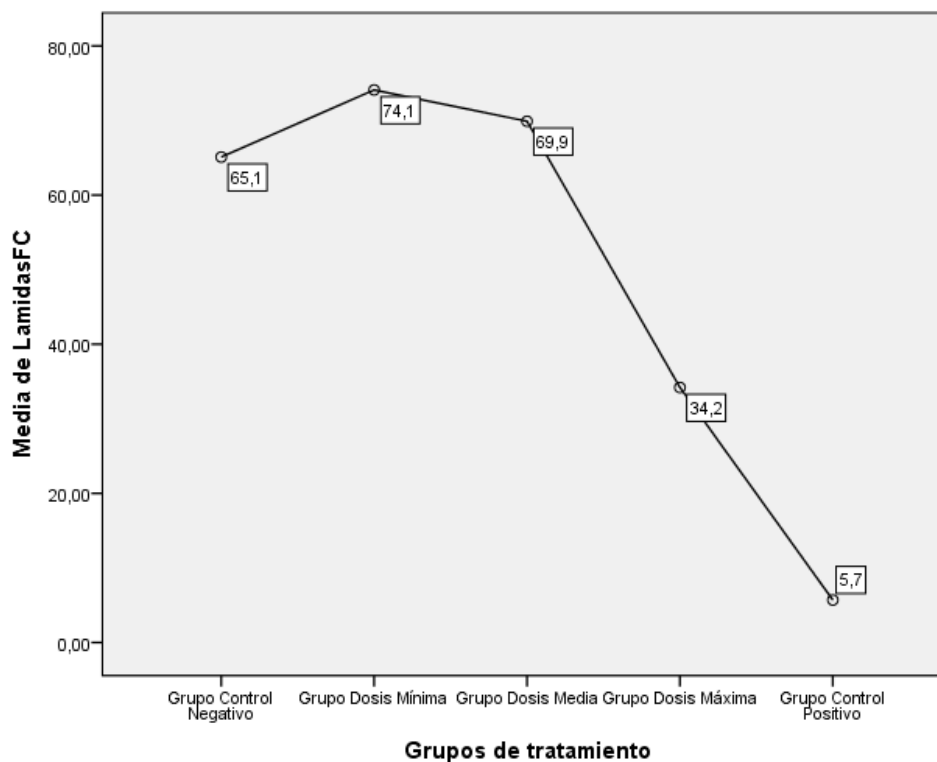


Figura 16. Gráfico de la fase Crónica de 15-30 min según el Test de Formalina.

El análisis de varianza de un factor que se realizó para el efecto analgésico según el test de formalina, en la fase crónica señala según la tabla de resultados N°3 – bajo un nivel de confianza del 95% - que existen diferencias significativas entre los distintos grupos experimentales, se llega a esta conclusión ya que la Sig.= 0.000.

TABLA N° 9

EFFECTO ANALGÉSICO: ANOVA DE UN FACTOR DE LA FASE CRÓNICA 15-30 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17083,800	4	4270,950	25,155	,000
Dentro de grupos	3395,700	20	169,785		
Total	20479,500	24			

Fuente: Registro de investigación propios

El test de Tukey realizado como prueba de especificidad y cuyos resultados resumidos de los subconjunto homogéneos que se muestra en la tabla N° 8, indica que durante la fase crónica 15-30 minutos, del test de formalina el grupo que recibió el tratamiento de dosis máxima que corresponde a 800mg por Kg de peso de animal, presenta eficacia analgésica, ya que es diferente del grupo control, en donde no hubo intervención alguna, sin embargo, esta eficacia no es comparable al grupo tratado con un principio activo de tipo analgésico opioide, ya que se ubica por debajo, por lo que concluimos que existe eficacia analgésica para el extracto etanólico de puki, pero no es equiparable a la de un activo puro.

TABLA N° 10

EFFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY DE LA FASE CRÓNICA 15-30 MINUTOS SEGÚN EL TEST DE FORMALINA

Grupos de tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Grupo Control Positivo	5	5.7000		
Grupo Dosis Máxima	5		34.2000	
Grupo Control Negativo	5			65.1000
Grupo Dosis Media	5			69.9000
Grupo Dosis Mínima	5			74.1000
Sig.		1,000	1,000	,808

Fuente: Registro de investigación propios

3.2.2 Evaluación analgésica según el foco calorífico

Para realizar esta evaluación también se utilizaron los mismos animales de experimentación del test anterior, sin embargo, se esperó entre ambas evaluaciones un tiempo de 21 días que incluye no solo la depuración de los tratamientos administrados sino también la estandarización para las condiciones de experimentación, en esta etapa también se realizó una aleatorización de la muestra quedando los grupos y sus dosis respectivas tal como sigue:



Figura 17. Evaluación en el foco calorífico

TABLA N° 11
GRUPOS EXPERIMENTALES Y DOSIS ADMINISTRADA SEGÚN PESO
CORPORAL PARA EL TEST DE FOCO CALORÍFICO

Grupos distribución aleatoria	Descripción	Peso corporal (g)	MI de extracto
Control negativo: Suero fisiológico 0.9%	Cabeza dorso	217g	3ml
	Cola	229g	3ml
	Cuatro patas	228g	3ml
	Cola pata posterior derecha	241g	3ml
	Cabeza pata anterior derecha	221g	3ml
Dosis mínima: 200 mg/Kg extracto Coreopsis fasciculata o “puki”	Cola pata posterior izquierda	236g	1.08ml
	Cola pata anterior izquierda	216g	0.98ml
	Cabeza cola	235g	1.07ml
	Cabeza	230g	1.04ml
	Pata posterior derecha	207g	0.94ml
Dosis media: 400 mg/Kg extracto Coreopsis fasciculata o “puki”	Sin marcas	237g	2.15ml
	Cabeza pata posterior derecha	238g	2.16ml
	Dorso cola	254g	2.31ml
	Pata posterior izquierda	190g	1.73ml
	Patas delanteras	259g	2.40ml
Dosis máxima: 800 mg/Kg extracto Coreopsis fasciculata o “puki”	Patas derechas	247g	4.5ml
	Dorso	209g	3.80ml
	Pata anterior derecha	260g	4.73ml
	Cabeza pata anterior izquierda	245g	4.46ml
	Patas izquierdas	250g	4.55ml
Control positivo: Acido Acetil Salicico 100mg/Kg	Patas posteriores	249g	2.49ml
	Pata anterior izquierda	266g	2.66ml
	Cola pata anterior derecha	212g	2.12ml
	Cabeza dorso cola	261g	2.61ml
	Cabeza pata posterior izquierda	261g	2.61ml

Fuente: Registro de investigación propios

TABLA N° 12

EFFECTO ANALGÉSICO: DESCRIPCION DEL TIEMPO DE RETIRADA DE LA COLA EN SEG SEGÚN EL TEST DE FOCO CALORÍFICO

Grupo	Tiempo 30'		Tiempo 60'		Tiempo 90'		Tiempo 120'	
	X	D.S.	X	D.S.	X	D.S.	X	D.S.
Grupo Control Negativo	33,800	4,9699	34,60	2,302	33,60	3,130	34,60	3,847
Grupo Dosis Mínima	33,000	3,5355	34,00	5,568	37,00	1,581	36,40	4,219
Grupo Dosis Media	32,600	7,3689	34,40	4,930	46,00	1,581	52,40	3,050
Grupo Dosis Máxima	32,800	4,6583	37,80	4,207	49,00	2,121	55,40	2,074
Grupo Control Positivo	44,800	4,7645	48,20	5,357	67,20	6,723	71,40	5,595

Fuente: Registro de investigación propios

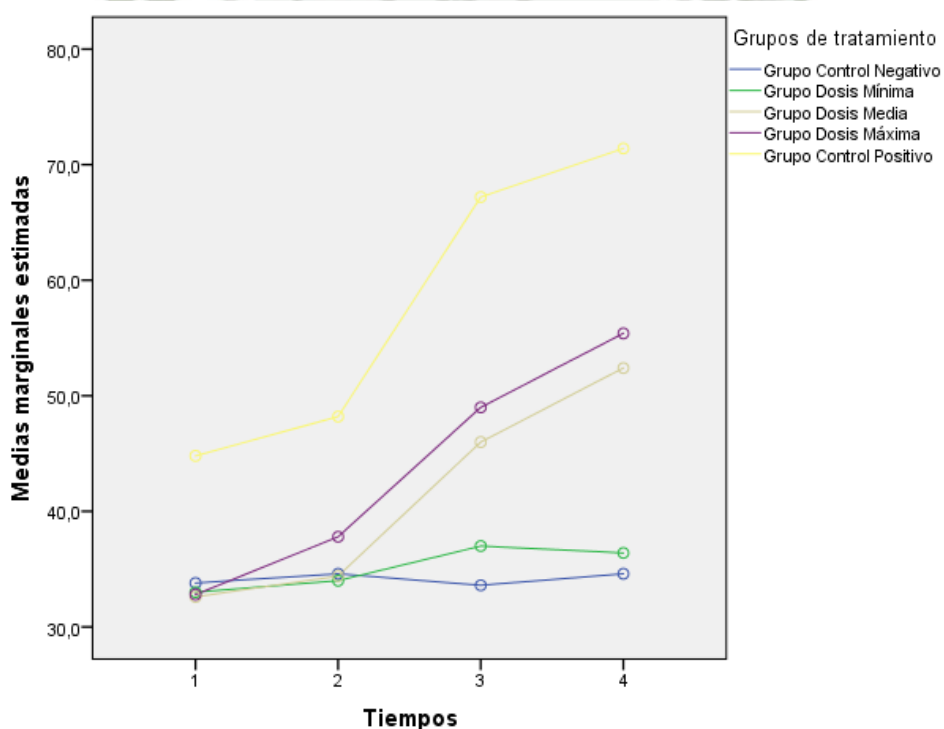


Figura 18. Grafico del Tiempo de Retirada de la Cola según el Test de Foco Calorífico.

TABLA N° 13
EFFECTO ANALGÉSICO: CONTRASTES MULTIVARIADOS PARA EL TEST DE
FOCO CALORÍFICO

Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Tiempos	Traza de Pillai	,893	50,130 ^b	3,000	18,000	,000
	Lambda de Wilks	,107	50,130 ^b	3,000	18,000	,000
	Traza de Hotelling	8,355	50,130 ^b	3,000	18,000	,000
	Raíz mayor de Roy	8,355	50,130 ^b	3,000	18,000	,000
Tiempos * Grupo	Traza de Pillai	1,000	2,501	12,000	60,000	,010
	Lambda de Wilks	,149	4,202	12,000	47,915	,000
	Traza de Hotelling	4,732	6,573	12,000	50,000	,000
	Raíz mayor de Roy	4,528	22,638 ^c	4,000	20,000	,000

Fuente: Registro de investigación propios

La tabla N° 12 muestra cuatro estadísticos multivariados, todos los cuales permiten contrastar las hipótesis nulas referidas a los efectos en los que se encuentra involucrado el factor intra-sujetos momento, pero sin asumir esfericidad. En nuestra investigación de los tres efectos relevantes (tiempo, grupo de tratamiento y tiempo*grupo de tratamiento), dos de ellos tienen que ver con el factor intra-sujetos tiempo: el propio factor (tiempo) y la interacción tiempo*grupo de tratamiento.

En este sentido los cuatro estadísticos coinciden en señalar que el efecto del factor tiempo es significativo ($\text{Sig.} = 0.00 < 0.05$), del mismo modo para la interacción tiempo*grupo de tratamiento ($\text{Sig.} = 0.000 < 0.05$).

TABLA N° 14
EFFECTO ANALGÉSICO: PRUEBA DE ESFERICIDAD DE MAUCHLY PARA EL
TEST DE FOCO CALORÍFICO

Efecto inter sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Sig.	Épsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
Tiempos	,784	4,554	5	,473	,850	1,000	,333

Fuente: Registro de investigación propios

La tabla N°13 muestra la prueba de esfericidad de Mauchly. Debido a que el nivel crítico asociado al estadístico W de Mauchly Sig.= 0.473 es mayor que 0.05 podemos asumir esfericidad y, en consecuencia, basar nuestras decisiones sobre los efectos intra-sujetos en la aproximación univariada que se muestra a continuación.

TABLA N° 15
EFFECTO ANALGÉSICO: ESTADISTICOS UNIVARIADOS DE LOS EFECTOS
INTRA-SUJETOS PARA EL TEST DE FOCO CALORÍFICO

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tiempos	Esfericidad asumida	3645,630	3	1215,210	76,637	,000
	Greenhouse-Geisser	3645,630	2,551	1429,103	76,637	,000
	Huynh-Feldt	3645,630	3,000	1215,210	76,637	,000
	Límite inferior	3645,630	1,000	3645,630	76,637	,000
Tiempos * Grupo	Esfericidad asumida	2021,220	12	168,435	10,622	,000
	Greenhouse-Geisser	2021,220	10,204	198,082	10,622	,000
	Huynh-Feldt	2021,220	12,000	168,435	10,622	,000
	Límite inferior	2021,220	4,000	505,305	10,622	,000
Error (Tiempos)	Esfericidad asumida	951,400	60	15,857		
	Greenhouse-Geisser	951,400	51,020	18,648		
	Huynh-Feldt	951,400	60,000	15,857		
	Límite inferior	951,400	20,000	47,570		

Fuente: Registro de investigación propios

La tabla N°14 muestra los estadísticos univariados referidos a los efectos intrasujetos. La información relativa al efecto individual del factor tiempo es consistente con la obtenida en los contrastes multivariados, ya que como vemos el estadístico del límite inferior el efecto del factor tiempo es significativo ($\text{Sig.} = 0.000 < 0.05$). Del mismo modo en lo relativo a la interacción de tiempo*grupo de tratamiento si es consistente con el análisis multivariado, ya que también la $\text{Sig.} = 0.000 < 0.05$.

TABLA N° 16
EFFECTO ANALGÉSICO: ANOVA DE DOS FACTORES PARA EL EFECTO
INTERSUJETOS DEL TEST DE FOCO CALORÍFICO

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	180200,250	1	180200,250	6127,176	,000
Grupo	7290,300	4	1822,575	61,971	,000
Error	588,200	20	29,410		

Fuente: Registro de investigación propios

La tabla N°15 tiene el anova de dos factores para el factor intersujetos grupo de tratamiento. El nivel crítico que tiene asociado es de 0.000 que nos permite rechazar la hipótesis nula y afirmar en cuanto a este factor grupo de tratamiento que es significativo, esto es, que la respuesta de retirada de la cola para el test de foco calorífico es distintos para los cinco grupos diferentes de tratamiento.

TABLA N° 17
EFFECTO ANALGÉSICO: TEST DE TUKEY PARA EL EFECTO INTERSUJETOS
DEL TEST DE FOCO CALORÍFICO

Grupos de tratamiento	N	Subconjunto		
		1	2	3
Grupo Control Negativo	5	34,150		
Grupo Dosis Mínima	5	35,100		
Grupo Dosis Media	5		41,350	
Grupo Dosis Máxima	5		43,750	
Grupo Control Positivo	5			57,900
Sig.		,980	,635	1,000

Fuente: Registro de investigación propios

El test de Tukey para el factor intersujetos que presenta la tabla N° señala que en cuanto este factor el grupo tratado con una dosis media de puki (*Coreopsis fasciculata*) (400mg/Kg) y la dosis máxima del extracto de puki (*Coreopsis fasciculata*), tienen efecto analgésico, ya que son diferentes del grupo control negativo, a un nivel de significancia de 0.05, sin embargo, y algo similar a lo que ocurrió en el test de formalina esta actividad es inferior al grupo control positivo que recibió ácido acetilsalicílico a una dosis de 100 mg/Kg. En cuanto al grupo de dosis mínima no presenta efecto analgésico ya que se ubica junto al grupo control.

Podemos concluir analizando tanto el factor intersujetos tiempo y el factor intrasujetos grupo de tratamiento que tanto el grupo de dosis mínima y dosis máxima de sumidades floridas de puki (*Coreopsis fasciculata*) tienen efecto analgésico, ya que en ambos casos la Sig.= 0.000, sin embargo, esta eficacia no alcanza a la presentada por el principio activo ácido acetilsalicílico.

3.4.EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL EXTRACTO DE PUKI

Para la evaluación de la toxicidad en primer lugar se identificó los animales de experimentación mediante marcado de su superficie corporal, posteriormente se registró sus pesos y se distribuyó al azar con la finalidad de constituir las etapas experimentales, que fueron tres tal como se describió en el capítulo anterior. Luego de ello se procedió al cálculo de dosis.

TABLA N° 18
ETAPAS EXPERIMENTALES Y DOSIS ADMINISTRADA SEGÚN PESO
CORPORAL PARA LA EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA

Etapa de investigación	Descripción	Peso corporal (g)	Ml de extracto
Primera etapa: Dosis 1600 mg/Kg extracto de <i>Coreopsis fasciculata</i> o “puki”	Pata anterior derecha	41g	0.10ml
	Cabeza dorso cola	37g	0.09ml
	Patas posteriores	44.5g	0.11ml
	Pata lado izquierdo	41.5g	0.10ml
	Cola	45g	0.11ml
Segunda etapa: Dosis 2400 mg/Kg extracto de <i>Coreopsis fasciculata</i> o “puki”	Pata posterior derecha	41g	0.16ml
	Dorso	50g	0.19ml
	Pata posterior izquierda	39g	0.15ml
	Pata anterior izquierda	40g	0.15ml
	Patas lado derecho	38g	0.14ml
Tercera etapa: Dosis 3200 mg/Kg extracto de <i>Coreopsis fasciculata</i> o “puki”	Cabeza dorso	41g	0.21ml
	Patas anteriores	39g	0.20ml
	Cabeza	48g	0.25ml
	Cuatro patas	39g	0.20ml
	Dorso cola	42g	0.21ml

Fuente: Registro de investigación propios

TABLA N° 19
EVALUACION DE SIGNOS DE TOXICIDAD PARA LAS TRES ETAPAS
EXPERIMENTALES DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA

Perfil	Signo de toxicidad	Nro de animales según dosis-etapa					
		1600 mg/Kg		2400 mg/Kg		3200 mg/Kg	
		D1	D2	D1	D2	D1	D2
Comportamiento	Hiperactividad	1	—	—	—	—	—
	Hipoactividad	—	—	—	—	—	—
	Irritabilidad	—	—	—	—	—	—
	Estereotipias	—	—	—	—	—	—
Neurológico	Alteración de la marcha	—	—	—	—	—	—
	Convulsiones	—	—	—	—	—	—
Autonómico	Sialorrea	—	—	—	—	—	—
	Secreción ocular	—	—	—	—	—	—
	Exoftalmia	—	—	—	—	—	—
	Diarrea	—	—	—	—	—	—
	Piloerección	5	1	5	3	5	5
	Movimientos deglutorios	3	5	5	5	5	5
	Signo de Straub	2	—	1	—	5	—

D1: día 1; D2: día 2

Los resultados para la evaluación de la toxicidad aguda se muestran en la tabla N°18, cabe precisas que el periodo de observación fue durante 14 días, sin embargo, los signos de toxicidad solo se observaron los dos primeros días (D1 y D2), y son los únicos que se exponen.

Como se observa en los resultados solo se observaron signos de toxicidad que incumben al perfil autonómico, y dentro de este solamente a la piloerección, movimientos deglutorios y signo de Straub, teniendo la mayor frecuencia los movimientos deglutorios

que se presentó en todos los animales de las tres etapas, salvo el primer día en la etapa primera con la dosis de 1600 mg/Kg de extracto de puki, en segundo lugar de frecuencia se encuentra la piloerección y con una menor frecuencia se ubica el signo de Straub.

Después de los 14 días además no se observaron muertes de los animales, al final se registró el peso corporal final, los resultados de estos pesos corporales se muestran a continuación.

TABLA N° 20
PESOS CORPORALES (G) AL INICIO Y FINAL DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA

Etapa de investigación	Descripción	Peso corporal (g) inicial	Peso corporal (g) final
Primera etapa: Dosis 1600 mg/Kg extracto de <i>Coreopsis fasciculata</i> o "puki"	Pata anterior derecha	41g	45g
	Cabeza dorso cola	37g	37g
	Patas posteriores	44.5g	47.5g
	Pata lado izquierdo	41.5g	45.5g
	Cola	45g	48g
Segunda etapa: Dosis 2400 mg/Kg extracto de <i>Coreopsis fasciculata</i> o "puki"	Pata posterior derecha	41g	45g
	Dorso	50g	53g
	Pata posterior izquierda	39g	43g
	Pata anterior izquierda	40g	43g
	Patas lado derecho	38g	41g
Tercera etapa: Dosis 3200 mg/Kg extracto de <i>Coreopsis fasciculata</i> o "puki"	Cabeza dorso	41g	45g
	Patas anteriores	39g	43g
	Cabeza	48g	51g
	Cuatro patas	39g	43.3g
	Dorso cola	42g	45g

Fuente: Registro de investigación propios

Como aspecto complementario y no menos importante en este estudio se evaluó la toxicidad del extracto de puki, ello con la finalidad de determinar la seguridad de la droga, esta indagación se llevó a cabo en ratones albino a los que se administró dosis altas de puki que fueron de 1600 mg/Kg, 2400 mg/Kg y 3200 mg/kg, al término del periodo de observación no se estableció la dosis letal 50 (DL50) ya que ningún animal murió, estos resultados – un tanto esperados – hacen pensar que el puki al igual que la mayoría de drogas vegetales comparte la característica común del amplio margen terapéutico.

TABLA N° 21
DESCRIPCION ESTADISTICA DE LOS PESOS CORPORALES (G) AL INICIO Y FINAL DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA

Pesos	N	Media	Mediana	Mín	Max	Rango	D.S.
Peso inicial	15	41.733	41.0	37.0	50.0	13.0	3.6784
Peso final	15	54.020	45.0	37.0	53.0	16.0	3.8765

Fuente: Registro de investigación propios

En la descripción estadística de los pesos corporales al inicio y al final de la evaluación de toxicidad aguda se aprecia que el promedio de pesos al final es mayor, esto va de la mano con la mediana y el resto de estadísticos, también se observa que en ambas mediciones la desviación de tres puntos aproximadamente se mantiene.

TABLA N° 22
PREUBA T PARA MUESTRAS RELACIONADAS SEGÚN PESOS CORPORALES (G) AL INICIO Y FINAL DE LA EVALUACION DE TOXICIDAD AGUDA

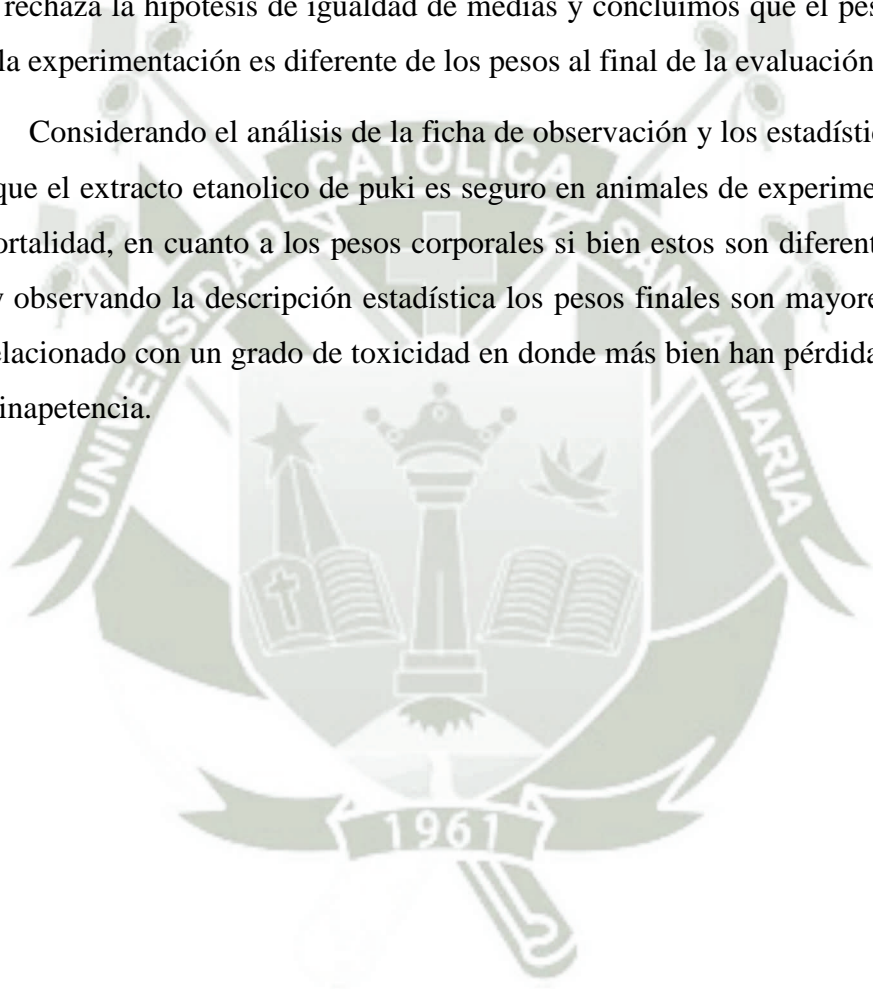
		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig.
		Media	D.S.	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Peso Inicial – Peso Final	-3.286	1.0508	.2713	-3.8686	-2.7048	-12,11	14	,000

Fuente: Registro de investigación propios

La tabla N°21 referida a la prueba T para muestras relacionadas, muestra en su primera mitad, tres estadísticos por defecto referidos a las diferencias entre cada par de puntuaciones: la media, la desviación estándar y el error típico de la media.

La siguiente columna contiene el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias; podemos estimar, con una confianza del 95%, que la verdadera diferencia entre las medias de los pesos al inicio y al final de la evaluación se encuentran entre -3.8686 g y -2.7048 g. La última mitad de la tabla informa sobre el valor estadístico T, sus grados libertad (g) y el nivel crítico Sig. El valor del nivel crítico es 0.000 y es menor a 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis de igualdad de medias y concluimos que el peso corporal al inicio de la experimentación es diferente de los pesos al final de la evaluación.

Considerando el análisis de la ficha de observación y los estadísticos, podemos concluir que el extracto etanólico de puki es seguro en animales de experimentación, y no habría mortalidad, en cuanto a los pesos corporales si bien estos son diferentes al inicio y al final, y observando la descripción estadística los pesos finales son mayores, por lo que no está relacionado con un grado de toxicidad en donde más bien han pérdida de peso, por diarrea o inapetencia.



CONCLUSIONES

PRIMERA

Mediante una prueba piloto se evaluó los tres tipos de extractos obtenidos con tres disolventes diferentes por el método de Soxhlet.

SEGUNDA

Según el análisis estadístico el grupo con mayor eficacia a un nivel de confianza del 95% fue el grupo con extracto etanólico.

TERCERA

El método de cromatografía en capa fina aplicado al extracto etanólico de sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* o “puki” reveló la presencia de terpenos, saponinas, flavonoides y taninos.

CUARTA

Se evaluó la actividad analgésica de las sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* o “puki” mediante la inducción de dolor químico experimental con formalina administrada por vía SC, en este método se distinguen dos etapas del dolor, la fase aguda en la que según el análisis estadístico de Anova de un factor y su Test de Tukey, se observó que el extracto de puki en las tres diferentes dosis mínima, media y máxima (200, 400 y 800 mg/Kg respectivamente) no tiene efecto en esta fase ya que es similar al control, en cambio en la fase crónica (15-30 minutos de observación) el grupo tratado con la dosis máxima presenta efecto analgésico, sin embargo, este se sitúa por debajo del grupo control positivo tratado con 10 mg/Kg tramadol.

QUINTA

Se evaluó la actividad analgésica de las sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* o “puki” mediante la inducción de dolor térmico experimental con foco calorífico, en este consiste en medir el tiempo en que demora en retirar el animal su cola desde que es colocado a la fuente de calor, según el análisis estadístico de Anova de dos factores y su Test de Tukey, se observó que el extracto de puki en dosis media y máxima 400 y 800 mg/Kg respectivamente, muestran efecto pero también este se sitúa por debajo del grupo control positivo tratado con 100 mg/Kg de ácido acetyl salicílico.

SEXTA

Luego de evaluar la toxicidad aguda en ratones albinos, administrando dosis de 1600 mg/Kg, 2400 mg/Kg y 3200 mg/kg, no se estableció la dosis letal 50 (DL50) ya que ningún animal murió, se concluyó luego del análisis de manifestaciones tóxicas y peso corporal, que el extracto de puki no reviste mayor toxicidad ya que solo se vieron manifestaciones toxicológicas menores a nivel autonómico y referidas solo a la piloerección y movimientos deglutorios principalmente.

SUGERENCIAS

PRIMERA

Realizar estudios confirmatorios del efecto analgésico de las sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* o “puki” en otros tipos de animales y con otros modelos experimentales.

SEGUNDA

Formular una forma farmacéutica de administración oral que contenga el extracto de de las sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* o “puki” y evaluar el efecto analgésico en animales de experimentación.

TERCERA

Realizar un estudio de toxicidad crónica a fin de determinar la seguridad de las sumidades floridas de *Coreopsis fasciculata* o “puki” administrado durante largos periodos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aldave Pajares Augusto; Mostacero León José: Botánica Farmacéutica. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
2. Alvarado Alva J.: Apuntes de Farmacología. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
3. Bello J., López de Cerain A.: Fundamentos de Ciencia Toxicológica. 1ª Edición. 2001. Ediciones Diez de Santos. Barcelona, España.
4. Bev-Lorraine, Dreishbach R.: Manual de Toxicología clínica de Dreisbach. 7ª Edición. 2008. Manual Moderno. México.
5. Bonkanka C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. Editor: Universidad de la Laguna. Ciencias y Tecnologías 28. I.S.B.N: 978-84-7756-779-0. Tenerife, España. Julio. 2007.
6. Bowman W.C. y Rand M.J.: Farmacología Bases Bioquímicas Y Patológicas Aplicaciones Clínicas, 2ª Edición. 1984. Nueva Editorial Interamericana, México D.F.
7. Brack Egg Antonio: Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición. 1999.
8. Bravo Díaz Luis: Farmacognosia. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
9. Bruneton J.: Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
10. Carruthers G. & Hoffman B. & Melmon K. & Nierenberg D.: CLINICAL PHARMACOLOGY. 4ª Edition, 2000. Editorial McGraw Hill.
11. Castillo García E., Martínez Solís I.: Manual de Fitoterapia. 2ª Edición. 2014. Editorial Elsevier Masson. España.
12. Ciril Rozman: Compendio de Medicina Interna, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
13. Daniel Wayne: BIOESTADÍSTICA, BASE PARA EL ANÁLISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. 4ª Edición, 2007. Editorial Limusa S.A. México.

14. Estrada R, Ubaldo D, Araujo A. Los flavonoides y el sistema nervioso central. versión impresa ISSN: 0185-3325. Salud Mental volumen 35 No 5. México. Setiembre/Octubre. 2012.
15. Flórez Jesús (Dir.): Farmacología Humana, 6ª Edición. 2014. Editorial Elsevier España. Barcelona España.
16. Ganong William: Ganong Fisiología Médica. 23ª Edición, 2010. Editorial McGraw Hill-Interamericana. México.
17. Golman Lee, Schafer A.: Tratado de Medicina Interna Goldamn Cecil. 25ª Edición. 2016. Editorial Médica Panamericana, España.
18. Gonzáles Baron y Ordonés Gallego: Dolor y cáncer. Hacia una oncología sin dolor. 1ª Edición 2003. Editorial Médica Panamericana. S.A. Madrid España.
19. Gutiérrez Á. Valenzuela E. Guía sobre manejo farmacológico del dolor. Universidad del Rosario. Facultad de Medicina. Primera edición. ISBN: 1692-7753. Bogotá, Colombia. Abril. 2007.
20. Gutiérrez García José Luis: Fisiopatología del Dolor. 2002.
21. Guyton Arthur: Tratado de Fisiología Médica. 20ª Edición. 2011. Editorial Elsevier. México.
22. Harvey Richard. (Editor): Farmacología. 5ª Edición, 2014. Editorial Lippincott Williams Wilkins. España.
23. Ibáñez S, *et al.* Terapéutica: Tratamiento del Dolor. Formación continuada para farmacéuticos de hospital. Hospital General Universitario de Alicante. Edición Ferrer Grupo. Alicante, España. Setiembre. 2010.
24. Hernández Sampieri R., Fernández Collado C.: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN, 5ª Edición, 2010. MCGRAW HILL Interamericana Editores.
25. Kalant Harold & Roschlau Walter: PRINCIPIOS BÁSICOS DE FARMACOLOGÍA MÉDICA. 6ª Edición, 2002. Editorial Oxford University Press. México.
26. Katzung Bertram G.: Farmacología Básica y Clínica. 12ª Edición, 2013. Editorial McGraw Hill Interamericana. México.
27. Kukllinski C.: Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas De Origen Natural, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.

28. Lock de Ugaz O.: INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA MÉTODOS EN EL ESTUDIO DE PRODUCTOS NATURALES. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
29. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: Velázquez Farmacología Básica y Clínica, 18ª Edición. 2008. Editorial Médica Panamericana.
30. Martínez A. Flavonoides. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Setiembre. 2005.
31. Micó J.A. y Ortega Alvaro A.: Modelos animales del Dolor. I Simposio de dolor en Reumatología. Facultad de Medicina, Universidad de Cádiz. Cádiz España. 2007.
32. Mostacero J.; Mejía F.; Gamarra O.: Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
33. Ocampo Rogelio y otros: CURSO PRÁCTICO DE QUÍMICA ORGÁNICA ENFOCADO A BIOLOGÍA Y ALIMENTOS. 1ª Edición. 2008. Comité Editorial Universidad de Caldas.
34. Pastrana Delgado J. *et al*: Fisiopatología y Patología General Básicas para Ciencias de la Salud. 1ª Edición. 2013. Editorial Elsevier. Barcelona España.
35. Polit Hungler: Investigación Científica en Ciencias de la Salud. Sexta Edición. Editoria Mc Graw-Hill Interamericana. México 2000.
36. Rang H. & Dale M.: Pharmacology, 6ª Edition, 2007. Editorial Elsevier.
37. Rivera A. AINES: su Mecanismo de Acción en el Sistema Nervioso Central. Revista Mexicana de Anestesiología. Artículo de revisión volumen 29. No 01. México. Enero / Marzo. 2006.
38. Rodríguez ML. Fármacos para el tratamiento del dolor. Dr Germán M Vergel Rivera Lic María Josefa Tasé Martínez Dr Ernesto Groning Roque.179.
39. Saladin K.: Anatomía Fisiología, La unidad entre Forma y Función. 6ª Edición, 2013. Editorial McGraw Hill. México.
40. Santibáñez R, Cabrera J. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. 1ra edición. Centro Nacional de Salud Intercultural. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú. 2013.

41. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. In. Santafé de Bogota: Area de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello; 2000. p. 157- 178.
42. Smits A. Estudio multicéntrico sobre el uso actual de fármacos opioides en el tratamiento del dolor operatorio. Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Medicina. Madrid, España. 2011.
43. Sotta A. Plantas Medicinales y Aromáticas de la Región Arequipa. 1ª Edición ed: CORDAID;2000.
44. Tejada Cano M. (Director): Estudio de la biodiversidad Cuenta Del Cotahuasi: La Unión Arequipa Flora Medicinal. 1ª Edición. 1998. Asociación Especializada para el desarrollo.
45. Torres Flores V.: Evaluación de la actividad analgésica local del extracto metanólico, etéreo y el gel de las hojas de *Baccharis scandens* (chilca) comparados con gel de diclofenaco en animales de experimentación. Arequipa, 2013. Universidad Católica de Santa María. Arequipa Perú.
46. Torres L.M. (Dir.): Medicina del Dolor. 1ª Edición 1997. Editorial Masson. Barcelona, España.
47. Tresguerres J. (Edit): Fisiología Humana. 3ª. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid España. 2005.
48. UICN-OMS-WWF. Directrices sobre conservación de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud (OMS) Unión internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) and Worldlife Fund (WWF), Gland 1993(581.6 UNI)
49. Verlag Stuttgart: Manual De Química Orgánica. 19ª Edición 1988. Editorial Reverté S.A. España.
50. Villar del Fresno A. (Editor): Farmacognosia General. 1ª Edición 2000. Editorial Síntesis S.A.



ANEXO N° 1: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN

Tiempo Retirada de cola (seg) foco calorífico

Grupo	N° U.A.	Tiempo 30	Tiempo 60	Tiempo 90	Tiempo 120
Grupo Control Negativo	1	33,0	36	37	38
	2	31,0	35	31	34
	3	36,0	31	32	30
	4	41,0	37	31	39
	5	28,0	34	37	32
Grupo Dosis Mínima	1	35,0	39	38	37
	2	38,0	25	37	35
	3	32,0	33	35	30
	4	31,0	35	36	39
	5	29,0	38	39	41
Grupo Dosis Media	1	29,0	31	45	49
	2	34,0	35	48	50
	3	22,0	28	47	52
	4	41,0	40	46	55
	5	37,0	38	44	56
Grupo Dosis Máxima	1	32,0	39	49	58
	2	26,0	37	47	57
	3	34,0	31	50	55
	4	33,0	40	52	53
	5	39,0	42	47	54
Grupo Control Positivo	1	41,0	43	60	75
	2	45,0	48	68	70
	3	40,0	45	66	65
	4	52,0	57	64	68
	5	46,0	48	78	79
Total	N	25	25	25	25

Evaluación Definitiva. Tiempo Retirada de cola (seg) foco calorífico

Grupo	Nº U.A.	Tiempo 30	Tiempo 60	Tiempo 90	Tiempo 120
Grupo Control Negativo	1	33,0	36	37	38
	2	31,0	35	31	34
	3	36,0	31	32	30
	4	41,0	37	31	39
	5	28,0	34	37	32
Grupo Dosis Mínima	1	35,0	39	38	37
	2	38,0	25	37	35
	3	32,0	33	35	30
	4	31,0	35	36	39
	5	29,0	38	39	41
Grupo Dosis Media	1	29,0	31	45	49
	2	34,0	35	48	50
	3	22,0	28	47	52
	4	41,0	40	46	55
	5	37,0	38	44	56
Grupo Dosis Máxima	1	32,0	39	49	58
	2	26,0	37	47	57
	3	34,0	31	50	55
	4	33,0	40	52	53
	5	39,0	42	47	54
Grupo Control Positivo	1	41,0	43	60	75
	2	45,0	48	68	70
	3	40,0	45	66	65
	4	52,0	57	64	68
	5	46,0	48	78	79
Total	N	25	25	25	25

Tiempo total en segundos de lamidas en ambas fases de evaluación

Grupo	N° U.A.	Lamidas FA	Lamidas FC
Grupo Control Negativo	1	60.00	70.50
	2	72.00	84.00
	3	57.00	49.50
	4	67.50	67.50
	5	52.50	54.00
Grupo Dosis Mínima	1	55.50	52.50
	2	97.50	91.50
	3	60.00	60.00
	4	52.50	94.50
	5	58.50	72.00
Grupo Dosis Media	1	60.00	67.50
	2	97.50	82.50
	3	67.50	73.50
	4	58.50	79.50
	5	66.00	46.50
Grupo Dosis Máxima	1	76.50	31.50
	2	93.00	21.00
	3	60.00	40.50
	4	45.00	46.50
	5	48.00	31.50
Grupo Control Positivo	1	21.00	10.50
	2	13.50	6.00
	3	24.00	3.00
	4	10.50	7.50
	5	7.50	1.50
Total	N	25	25

ANEXO N° 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS TOXICIDAD AGUDA

Perfil	Signo de toxicidad	R1	R2	R3	R4	R5
Comportamiento	Hiperactividad					
	Hipoactividad					
	Irritabilidad					
	Estereotipias					
Neurológico	Alteración de la marcha					
	Convulsiones					
Autonómico	Sialorrea					
	Secreción ocular					
	Exoftalmia					
	Diarrea					
	Piloerección					
	Movimientos deglutorios					
Estado final	Signo de Straub					
	Peso corporal (14° día)					
	Vivo					
	Muerto					

ANEXO N° 3: CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA 08- 2017-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Se hace constar que las muestras frescas de hojas y tallos de la planta traída al laboratorio para el análisis botánico corresponde a la especie *Coreopsis fasciculata* Wedd. de la familia Asteraceae, de nombre común "Puki". Dicha muestra fue traída de la Localidad de Pampamarca, Provincia de la Unión, Departamento de Arequipa para el estudio de Tesis "Evaluación del efecto analgésico y toxicidad aguda de *Coreopsis fasciculata* Wedd "Puki", ejecutado por ROSAS VILCA JANETH TERESA Y AGUILAR GONZALES PALOMA de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Santa María, para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE: Asteridae
ORDEN: Asterales
FAMILIA: Asteraceae
GENERO: Coreopsis
ESPECIE: *Coreopsis fasciculata* Wedd

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 18 de Abril del 2017


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 984248674
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ