

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



“Evaluación del efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de hojas de *Kageneckia lanceolata* (Iloque) en animales de experimentación, Arequipa 2016”

Tesis presentada por las bachilleras en Farmacia y
Bioquímica:

CCAHUANA CHURATA, DELIA

LARICO SANCHO, IVET ROXANA

Para obtener el Título Profesional de Químico-
Farmacéutico

Asesor:

Q.F. Fernando Torres Vela

AREQUIPA – PERÚ

2017

DEDICATORIAS

*A Dios, por darme la vida,
buena salud, la fuerza y el
coraje para hacer este sueño
realidad y por estar en cada
momento de mi vida.*

*A Mis abuelos (QEPD), por
quererme y apoyarme siempre,
esto también se lo debo a ellos y
a todos mis amigas(o) que nos
brindaron su apoyo durante
todo este proceso, y dándonos
sus consejos incondicionalmente.*

*A mis padres Santiago y Irma,
por su amor, su ejemplo,
consejos y valores, por
motivarme a seguir adelante y
por todo el esfuerzo y sacrificio
que permitieron que hoy
culmine una gran etapa. A mis
hermanos Mirian, Alan,
Tatiana y Cosme, por darme la
fortaleza para culminar mis
estudios*

Delia

Dedico y agradezco esta tesis a Dios por darme fuerza, fe y haberme guiado a lo largo de este camino; dándome la fortaleza para afrontar los diversos retos que se me presentaron.

A mi padre Aquiles Larico por todo el esfuerzo y sacrificio por brindarme todo el amor, la comprensión el apoyo incondicional y la confianza en cada momento de mi vida todo esto es para ti porque eres un ser maravilloso.

A mis hermanos Vanesa y Yerson quienes con sus palabras de aliento y buenos deseos me brindan su apoyo incondicional y seguir adelante con mis sueños.

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.

Ivet Roxana

AGRADECIMIENTOS

Brindarles nuestra mayor gratitud a todos nuestros docentes del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María, por el tiempo brindado y todas las enseñanzas y consejos aportados a nuestra formación profesional y personal durante toda nuestra carrera universitaria.

Agradecer a nuestro asesor Dr. Fernando Torres por el gran apoyo que nos brindó y por todos sus consejos que nos sirvieron para realizar y culminar este trabajo.

A nuestros dictaminadores quienes se merecen nuestro especial reconocimiento por el interés mostrado por nuestra investigación y las sugerencias recibidas a cada uno de ellos Dr. José Villanueva Salas, Dr. Gonzalo Dávila del Carpio y Dra. Mocita de la fuente Torres, por 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 por su orientación, paciencia y la adquisición de conocimientos que nos ofrecieron a lo largo de nuestra tesis.

Expresar también nuestro agradecimiento al personal de laboratorio por su apoyo y colaboración durante la realización de nuestro trabajo de investigación.

ÍNDICE

DEDICATORIAS	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	IX
ABSTRACT	XI
INTRODUCCIÓN	XIII
OBJETIVOS	01
HIPÓTESIS	02
CAPÍTULO I	
MARCO TEÓRICO	03
1.1. <i>Kageneckia lanceolata</i> (lloque).....	03
1.1.1. Nombre científico.....	03
1.1.2. Nombres comunes	03
1.1.3. Descripción botánica	03
1.1.4. Distribución	04
1.1.5. Taxonomía.....	04
1.1.6. Composición química.....	04
1.1.7. Usos medicinales	04
1.1.8. Otros usos	05
1.2. FIEBRE	06
1.2.1. Termorregulación	06
1.2.2. Definición.....	07
1.2.3. Fisiopatología	08
1.2.4. Diagnóstico diferencial.....	12

1.2.5. Etiologías.....	13
1.2.6. Semiología	13
1.3. INFLAMACIÓN.....	15
1.3.1. Concepto	15
1.3.2. Causas de la inflamación.....	16
1.3.3. Componentes de la reacción Inflamatoria.....	16
1.3.3.1. Cambios Hemodinámicos.....	17
1.3.3.1.1. Exudación de plasma	18
1.3.3.1.2. Alteraciones al flujo laminar	18
1.3.3.2. Alteraciones de la permeabilidad	19
1.3.3.3. Modificaciones leucocitarias.....	19
1.3.3.3.1. Marginación y adherencia	20
1.3.3.3.2. Conglomeración	21
1.3.3.3.3. Quimiotaxis	22
1.3.3.3.4. Fagocitosis.....	23
1.3.4. Características Macroscópicas de la Inflamación.....	24
1.4. ÁCIDO ACETILSALICÍLICO.....	25
1.4.1. Farmacocinética	26
1.4.2. Farmacodinamia:.....	27
1.4.2.1. Mecanismo de acción	27
1.4.2.2. Acciones farmacológicas.....	27
1.4.3. Indicaciones	28
1.4.4. Posología	29
1.4.5. RAM (Reacción Adversa al Medicamento)	29
1.4.6. Contraindicaciones	30

1.4.7. Interacciones.....	30
1.4.8. Toxicidad.....	30
1.5. FUNDAMENTOS DE LOS MODELOS FARMACOLOGICOS DE EVALUACIÓN	31
1.5.1. Antipirético.....	31
1.5.2. Antiinflamatorio	31
CAPÍTULO II	
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
2.1. TIPO DE ESTUDIO	33
2.2. LUGAR DE REALIZACIÓN.....	33
2.3. MATERIAL BIOLÓGICO	33
2.3.1. Muestra vegetal	33
2.3.2. Muestra animal	34
2.4. MATERIALES DE LABORATORIO	34
2.4.1. Material de vidrio	34
2.4.2. Equipos de laboratorio.....	34
2.4.3. Reactivos y otros insumos.....	35
2.4.4. Material farmacológico	36
2.4.5. Otros	36
2.5. OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS HOJAS DE <i>Kageneckia lanceolata</i> (lloque)	37
2.5.1. Método de Recolección	37
2.5.2. Método de Selección	37
2.5.3. Método de Estabilización	37
2.5.4. Método de Desección	37

2.5.5. Método de Trituración.....	37
2.6. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS DE	
<i>Kageneckia lanceolata</i> (lloque)	38
2.6.1. Método	38
2.6.2. Fundamento	38
2.6.3. Procedimiento.....	39
2.7. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS	40
2.7.1. Método	40
2.7.2. Fundamento	40
2.7.3. Procedimiento.....	40
2.8. ANÁLISIS FITOQUÍMICO	41
2.8.1. Método	41
2.8.2. Fundamento	41
2.8.3. Procedimiento.....	42
2.8.4. Revelado.....	43
2.9. MÉTODOS PARA LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA	43
2.9.1. Consideraciones Generales	43
2.9.2. Estandarización de la muestra animal	44
2.9.3. Aleatorización de la muestra animal	44
2.9.4. Evaluación piloto.....	44
2.9.5. Vía de administración y dosis	45
2.9.6. Método para la evaluación del efecto antipirético.....	46
2.9.6.1. Inducción de la fiebre experimental	47
2.9.6.2. Análisis de la información.....	48
2.9.7. Método para la evaluación del efecto antiinflamatorio	49

2.9.7.1. Inducción del proceso inflamatorio	49
2.9.7.2. Análisis de la información	51
2.9.8. Cálculo del área bajo la curva	51
2.10. METODOS ESTADISTICOS	52
CAPÍTULO III	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
3.1. OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS HOJAS DE <i>Kageneckia lanceolata</i> (Lloque)	53
3.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS DE <i>Kageneckia</i> <i>lanceolata</i> (lloque)	53
3.3. RENDIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES DE HOJAS <i>Kageneckia</i> <i>lanceolata</i> (lloque)	54
3.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR	55
3.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPIRÉTICO	59
3.5.1. Evaluación piloto	59
3.5.2. Evaluación final	65
3.6. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO	73
3.6.1. Evaluación piloto	73
3.6.2. Prueba final	78
CONCLUSIONES	88
SUGERENCIAS	89
BIBLIOGRAFIA	90
ANEXO	95



RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María, utilizando animales de experimentación, ratas de raza Holtzman, especie *Rattus Rattus*, variedad albina; con el objetivo principal de evaluar el efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de hojas de *Kageneckia lanceolata* (lloque), a través de un estudio preclínico *in vivo*.

Se procedió a obtener tres extractos mediante el proceso de extracción Soxhlet. Para ello se recolectó la planta desde su hábitat ubicado en el distrito de Carumas perteneciente al departamento de Moquegua, se estabilizó, desecó y se extrajo utilizando solventes como hexano, acetato de etilo y etanol. Estos extractos fueron llevados a sequedad, determinándose que el extracto en etanol presenta el mayor porcentaje de rendimiento.

También se determinó la composición fitoquímica preliminar de la planta mediante el método de cromatografía en capa fina, en la que se determinó la presencia de terpenos, taninos, flavonoides; siendo negativo para alcaloides.

Posteriormente se evaluó el efecto antipirético y antiinflamatorio, el primero mediante el método que consiste en la administración subcutánea en la región dorsal a una dosis de 5mL/Kg de suspensión de levadura de cerveza como agente pirógeno; el segundo mediante la inducción de un edema en la

aponeurosis plantar de los animales de experimentación tras la administración de una suspensión de carragenina al 2% a una dosis de 0.2mL, como agente proinflamatorio. En ambas evaluaciones se realizó una prueba piloto con el objetivo de verificar que extracto (hexano, acetato de etilo y etanol) presenta mayor eficacia. En esta prueba piloto se administró una dosis de 800mg/Kg en forma arbitraria con la intencionalidad de observar resultados positivos. Para ambas acciones farmacológicas fue el extracto obtenido con etanol el que se alejó con diferencias estadísticas significativas del grupo control. El análisis de los resultados piloto y finales fue a través de la determinación del área bajo la curva que incluye todos los tiempos de medición, a estas áreas se les aplicó el análisis de varianza y test de Tukey a un nivel de confianza del 0.05.

En la prueba final del efecto antipirético se conformaron 05 grupos experimentales: control, extracto de lloque a 200, 400 y 800mg/Kg; y el grupo con ácido acetilsalicílico a una dosis de 100mg/Kg de peso. Luego de la inducción del estado febril mediante el agente pirógeno (LC al 20%) se administraron los extractos y se procedió a medir la temperatura rectal a las 1, 2, 3 y 4 horas. Con las diferencias de temperaturas, se calculó el área bajo la curva. Encontrándose que el extracto administrado por vía oral a una dosis de 800mg/Kg fue el que presentó una eficacia distinta del control, pero por debajo del grupo farmacológico, por lo que presenta actividad antipirética pero con moderada intensidad del efecto.

La prueba final del efecto antiinflamatorio también necesitó de 05 grupos experimentales: control, extracto de lloque a 200, 400 y 800mg/Kg; y el grupo con ácido acetilsalicílico a una dosis de 100mg/Kg de peso. Se midió el volumen del tejido inflamado sumergiendo la pata en el pletismómetro digital, al cabo de 1, 2, 4 y 6 horas. Se halló la diferencia de volumen medido y el estado basal con estas mediciones se halló el área bajo la curva que considera todo estos tiempos y se realizó el análisis de los resultados. El resultado final fue todo los extractos de lloque a diferentes dosis no presenta actividad antiinflamatoria ya que son similares estadísticamente al control y diferentes al grupo farmacológico.

Palabras claves: Lloque, antipirético, antiinflamatorio.



ABSTRACT

The present investigation was carried out in the laboratories of the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Biochemistry and Biotechnology of the Catholic University of Santa Maria, using experimental animals, rats of race Holtzman, species *Rattus Rattus*, variety albina; with the main objective of this study was to evaluate the effect antipyretic and anti-inflammatory effects of the extract of leaves of Iloque (*Kageneckia lanceolata*), through a preclinical study *in vivo*.

We proceeded to get three extracts using the Soxhlet extraction process. To this end, the plant was collected from their habitat located in the district of Carumas belonging to the department of Moquegua, stabilized, deseco and was extracted using various solvents like hexane, ethyl acetate and ethanol. These extracts were brought to dryness, determining that the extract with ethanol has the highest percentage of performance.

It was also determined the preliminary phytochemical composition of the plant by the method of thin layer chromatography, which determined the presence of terpenes, tannins, flavonoids; being negative for alkaloids.

Subsequently evaluated the effect antipyretic and anti-inflammatory, the first through the method that consists of the subcutaneous administration in the dorsal region to a dose of 5mL/Kg of yeast suspension of beer as agent pirógeno; the second by induction of edema in the plantar aponeurosis of

experimental animals after the administration of a suspension of carrageenan to 2% to a 0.2mL dose, such as proinflammatory agent. Both evaluations conducted a pilot test with the objective of verifying that extract (hexane, ethyl acetate and ethanol) presents more effectively. In this pilot test was administered a dose of 800mg/Kg in an arbitrary manner with the intent to observe positive results. For both pharmacological actions was the ethanol extract which walked away with no statistically significant differences in the control group. The analysis of the pilot results and the end was through the determination of the area under the curve that includes all the measurement times, these areas were applied the analysis of variance and the Tukey test at a level of confidence of 0.05.

In the final test of the effect antipyretic 05 experimental groups were formed: control, extract from 400 to 200 lloque, and 800mg/Kg; and the group with acetylsalicylic acid at a dose of 100mg/kg of body weight. After the induction of the feverish state by the agent pirógeno (LC to the 20%) were administered the extracts and proceeded to take a rectal temperature at 1, 2, 3 and 4 hours. With the temperature differences, we calculated the area under the curve. Finding that the extract administered orally at a dose of 800mg/kg was the one who introduced a different effectiveness of the control, but below the pharmacological group, so it has antipyretic activity but with moderate intensity of the effect.

The final test of the anti-inflammatory effect also needed 05 experimental groups: control, lloque extract to 200, 400 and 800mg/Kg; and the group with acetylsalicylic acid at a dose of 100mg/Kg of weight was measured the volumen of the inflamed tissue by soaking the leg in the pletismometro digital, after 1, 2, 4 and 6 hours. It was found the difference of measured volume and the basal state with these measurements are found the area under the curve that considers all these times and the analysis was made of the results. The end result was all lloque extracts to different doses does not have anti-inflammatory activity because they are statistically similar to the control and different to the pharmacological group.

Key words: Lloque, anti-inflammatory, antipyretic.

INTRODUCCIÓN

Los andes del Perú posee una gran diversidad de plantas medicinales con lo que el hombre andino ha aprendido a convivir, aprendiendo a manejarla para obtener sus alimentos, vestimenta, vivienda y salud. Cerca del 80% de la población mundial recurre al uso de plantas medicinales para tratar diversas enfermedades. ⁽⁵⁸⁾

En el Perú la riqueza de las plantas medicinales es muy amplia, más de 4400 especies son de uso conocido por las poblaciones locales y están presentes en mayor porcentaje en la región andina. ⁽³⁾

Kageneckia lanceolata Ruiz & Pav ⁽³⁾ (lloque), perteneciente a la familia de las Rosaceas ^(3,44) es un arbusto perenne que crece en laderas de cerros por encima de los 2800 msnm ^(3,44), sus tallos son usados como material de artesanía, también es usado como cerco vivo en cultivos y como leña, las hojas y ramas constituyen un tinte natural azul grisáceo, gris negro o negro. Su corteza posee sustancias naturales tánicas para la curtiembre de cueros. ^(52,53)

En la medicina tradicional las infusiones de diversas partes de este arbusto son utilizados para tratar cuadros de fiebre ^(52,53), dolor de pecho y de estómago, dolor de dientes, estreñimiento y amigdalitis ^(52,53), además de ser emético. ⁽²⁾

Los fármacos más utilizados para tratar el dolor, inflamación y fiebre son los AINES, estos fármacos presentan una amplia gama de efectos secundarios cuya principal razón es la inhibición no selectiva de la ciclooxigenasa I (COX I) y la ciclooxigenasa II (COX II) ⁽⁶⁰⁾. Es por ello que se están dirigiendo tantos estudios para encontrar un inhibidor selectivo de COX II o compuestos que actúan con otros mecanismos y pequeños efectos secundarios.

Basándonos en las afirmaciones tradicionales acerca de las propiedades medicinales de *Kageneckia lanceolata* (lloque), la presente investigación tuvo como objetivo evaluar las propiedades antipiréticas y antiinflamatorias de *Kageneckia lanceolata* (lloque) con modelos piréticos e inflamatorios *in vivo*.

OBJETIVOS

- Obtener extractos de hojas de *Kageneckia lanceolata* (lloque) con: hexano, acetato de etilo y etanol.
- Realizar un análisis fitoquímico del extracto obtenido a partir de las hojas de *Kageneckia lanceolata* (Lloque).
- Evaluar el efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de hojas de *Kageneckia lanceolata* (Lloque) en animales de experimentación.
- Comparar el efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de hojas de *Kageneckia lanceolata* (lloque) con mayor actividad con tabletas de ácido acetilsalicílico (aspirina)

HIPÓTESIS

Dado que en nuestro país crecen diversas plantas con propiedades medicinales, es necesario investigar si las bondades que ofrecen son ciertas; considerando que las hojas de *Kageneckia lanceolata* (lloque) tradicionalmente han sido consumidas en infusión aludiéndole propiedades antipiréticas y antiinflamatorias, es probable, que los extractos de *Kageneckia lanceolata* (lloque) muestren los efectos mencionados en animales de experimentación.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. *Kageneckia lanceolata* (lloque)

1.1.1. Nombre científico

Kageneckia lanceolata Ruiz & Pav. ⁽³⁾

1.1.2. Nombres comunes

Lloque, Sacha Durazno, duraznillo, durazno de la sierra. ^(3,30)

1.1.3. Descripción botánica

Arbusto perenne de ramas alargadas, ramificado desde la base, de 2-5 m de alto, cuyo tronco oscila entre los 10 – 20 cm de diámetro, con ramas floríferas inermes algo resinosas en el borde. Hojas coriáceas, lanceoladas u oblanceoladas, largamente cuneadas hasta la base, redondeada o cortamente agudas en el ápice, 3-5 cm de longitud y 1 cm de ancho, finamente glandular serrulada desde el ápice hasta la base. Flores de 2 cm de ancho, corimboso con pocos pedicelos. Corola de color blanco-cremoso, 5 pétalos. Fruto de 3cm de diámetro, endurecido, pubescente, con 5 folículos, cada uno de 1,2-2,0 mm longitud. Semillas de 10-12 mm de longitud ^(3,43,44), como se muestra en la (*Véase figura 1.1.*)

Presente en Perú, Bolivia, Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca, San Luis y Córdoba. ⁽⁴³⁾

1.1.4. Distribución

Arbusto perenne que crece en laderas de cerros pendientes rocosas en suelos pedregosos, franco-arenosos formando algunas veces comunidades.

Se le encuentra desde los 2800-3700 msnm. ^(3,42)

1.1.5. Taxonomía

- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Rosidae
- Orden: Rosales
- Familia: Rosáceae
- Género: *Kageneckia*
- Especie: *Kageneckia lanceolata* Ruiz & Pav. ⁽⁶⁶⁾

1.1.6. Composición química

Solo se reportó la presencia de taninos. ^(52,53)

1.1.7. Usos medicinales

El cocimiento de la corteza y las hojas se utilizan como antipalúdicos y febrífugos. ^(52,53)

Para el dolor de pecho utilizar el cocimiento del fruto. En dolor de dientes masticar el fruto. Para el dolor de estómago tomar la infusión. En caso de estreñimiento tomar el mate de 3 frutos. En amigdalitis se recomienda hacer gárgaras con el cocimiento del fruto. ^(52,53)

También se le atribuyen propiedades antidiarreicas y analgésicas cocimiento de las ramas y semillas. ^(52,53)

1.1.8. Otros usos

Sus tallos son usados como material de artesanía para hacer cucharas, botones, bastones, etc. También es usado como cercos vivos de cultivos y como leña. Por otro lado las hojas y ramas tiernas constituyen un tinte natural azul grisáceo, gris negro o negro. Su corteza posee sustancias naturales tánicas para la curtiembre de cueros. ^(52,53)

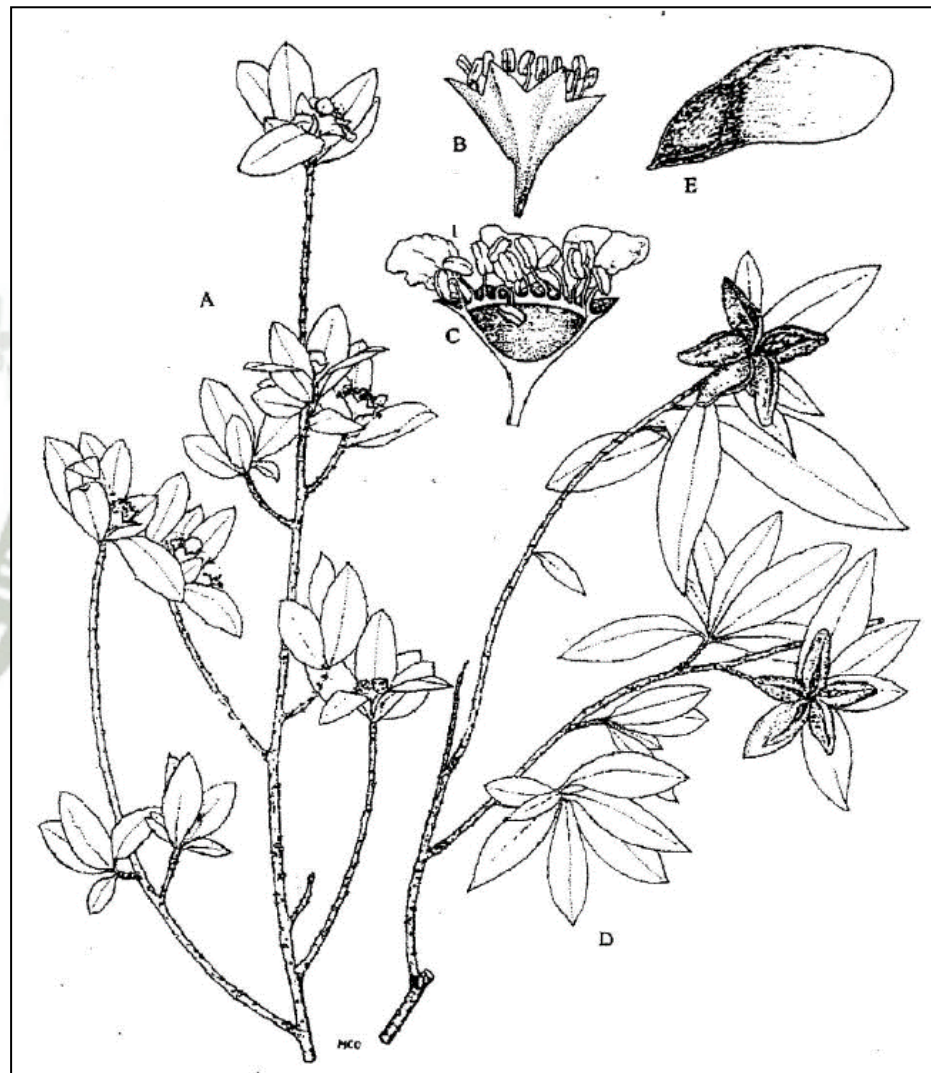


Figura I. 1 *Kageneckia lanceolata*. A, rama de pie estaminado; B, flor estaminada removidos los pétalos; C, corte longitudinal por flor estaminada; D, rama con fruto de pie pistilado; E, semilla.

Fuente: Imagen obtenido del libro. *Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora: 1-53.*

1.2. FIEBRE

La temperatura normal del cuerpo humano refleja el equilibrio entre dos procesos opuestos: 1) la producción de energía en forma de calor por los tejidos vivos (p. ej.: músculo e hígado) llamada termogénesis y 2) la pérdida de ésta al medio ambiente a través de la emisión de rayos infrarrojos y la transferencia de energía desde la piel y los pulmones. Su regulación, como otros aspectos fundamentales de la biología humana, comprende la compleja interacción de respuestas autonómicas, endocrinas y de comportamiento dirigidas, en este caso, por neuronas termosensibles ubicadas en la región preóptica, el hipotálamo anterior y las estructuras adyacentes. El cuerpo puede, además, intercambiar pasivamente energía con el ambiente. ^(38,53)

1.2.1. Termorregulación

La temperatura corporal central (temperatura de la sangre en la aurícula derecha) tiene un valor promedio de 37°C con variaciones diarias no mayores de 0.6°C en condiciones fisiológicas, cuando la temperatura corporal central se eleva, se producen vasodilatación cutánea y aumento de la sudoración, que disipan calor por convección y evaporación, respectivamente. Si la temperatura corporal central desciende, se aumenta la producción de calor por incremento insensible del tono muscular y se atenúa su pérdida por disminución de la sudoración y vasoconstricción. ⁽⁵⁵⁾

(Véase figura 1.2) Cuando el estrés por frío es intenso, los escalofríos incrementan la producción de calor durante breve tiempo, casi tanto como un ejercicio máximo. La red termorreguladora sería en realidad, más compleja. Las neuronas de la región preóptica y del hipotálamo anterior reciben además información de termorreceptores de la piel y la médula espinal. Estas aferencias, por una vía multisináptica, desde el haz espinotalámico y pasando por la formación reticular del tronco cerebral, finalizan en los centros hipotalámicos. Los mecanismos de termorregulación, si bien están regidos por el sistema nervioso central (centros termorreguladores hipotalámicos) son involuntarios y automáticos. Permiten que la temperatura corporal desarrolle cambios diurnos y previsibles –**ritmo cardiaco**- que van desde los 36°C al amanecer hasta

casi 37.5°C al caer la tarde. Este ritmo circadiano se adquiere en los primeros meses de vida y se conserva para siempre. Las variaciones circadianas se producen aun durante los episodios febriles, en los cuales existe una temperatura media elevada, a pesar de que la agresión que los genera es constante durante todo el día (p.ej.: endocarditis infecciosa). Pueden aparecer variaciones adicionales de la temperatura corporal normal con la ingesta de alimentos, la ovulación y el ejercicio físico violento. Los seres humanos participan en la termorregulación a través de distintas conductas voluntarias (vestimenta, ingesta de alimentos, calefacción o refrigeración de ambientes).⁽⁶¹⁾

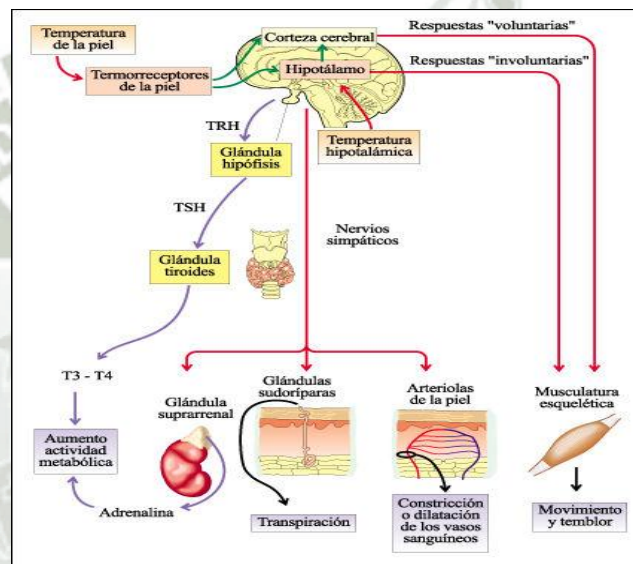


Figura I.2 Mecanismo de acción de termorregulación
Fuente: Imagen obtenido del libro Anatomofisiología y Patología Básicas.

1.2.2. Definición

En la práctica asistencial se utilizan referencias periféricas de la temperatura corporal central. La temperatura corporal promedio normal de los adultos sanos, medida en la cavidad bucal, es $36,8 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$. Existen diferencias en los valores, de acuerdo con el territorio anatómico que se emplea en la medición. Así, la temperatura rectal es $0,3^{\circ}\text{C}$ superior a la obtenida, en el mismo momento, en la cavidad oral y ésta, a su vez, excede en $0,6^{\circ}\text{C}$ a la registrada simultáneamente en la axila.^(38,53)

El término fiebre define a la elevación regulada de la temperatura corporal por encima de los valores normales ($>37,5^{\circ}\text{C}$ en la cavidad oral) debido a la reprogramación de los centros termorreguladores hipotalámicos, mediada por **citosinas**, en respuesta a un estímulo **pirogénico** (capaz de producir calor) exógeno. En función del ritmo circadiano deben considerarse como fiebre los registros matinales $>37,2^{\circ}\text{C}$ y los vespertinos $>37,7^{\circ}\text{C}$. Cuando la fiebre es muy elevada ($>41,5^{\circ}\text{C}$) se la designa como **hiperpirexia**. En la fiebre la temperatura corporal se eleva como resultado de una respuesta homeostática intacta. El término **hipotermia** define a la temperatura corporal central $<35^{\circ}\text{C}$. Puede ocurrir en forma accidental –por exposición a una temperatura ambiental baja-, como consecuencia de una condición de enfermedad (sepsis, shock, mixedema) o consumo de drogas (alcohol, psicofármacos, anestésicos, marihuana).^(38,53)

1.2.3. Fisiopatología

La fiebre es una respuesta adaptativa normal del cerebro, estereotipada (siempre la misma), independiente del desencadenante, mediada por una cascada de citosinas prostaglandinas y producidas por múltiples procesos que generan inflamación (infecciosos o no). La capacidad de elevar la temperatura corporal en respuesta a un estímulo inflamatorio no es patrimonio exclusivo del ser humano. Con escasas excepciones, está presente en los mamíferos, reptiles, anfibios y peces, como también en muchos invertebrados. Constituye una respuesta casi universal de los animales a la enfermedad, que se expresa en distintos niveles de la escala biológica.^(38,53)

La respuesta febril se pone en marcha cuando agentes externos al huésped que reciben el nombre genérico de pirógenos exógenos (p. ej.: lipopolisacárido endotóxico de los bacilos gramnegativos, exotoxinas del *Streptococcus* grupo A, toxina del shock tóxico del *Staphylococcus aureus*), producidos en un foco infeccioso, estimulan la síntesis y liberación a la circulación –desde los monocitos/macrófagos, neutrófilos, algunos grupos de linfocitos T, fibroblastos y células endoteliales activadas- de proteínas proinflamatorias de bajo peso molecular (15.000-30.000 daltons) y corta

vida media intravascular, llamadas citosinas. Por lo menos una docena de éstas son capaces de producir fiebre, y se las denomina pirógenos endógenos (generados en las células del huésped). Las mejores conocidas son: interleucina (IL)-1 alfa, IL-1 beta (probablemente el más potente de los pirógenos endógenos), el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa, la IL-6, la IL-18 y algunos interferones. Estas moléculas, una vez liberadas, pueden inducir la expresión de otras similares (cascada de citosinas), así como la de sus propios receptores. Se ha demostrado que las citosinas también pueden originarse en células no inmunes de tejidos neoplásicos. ^(38,53)

Las citosinas pirogénicas circulares establecen la comunicación biológica entre el sistema inmune y el sistema nervioso central (SNC). Probablemente sean incapaces de atravesar la barrera hematoencefálica. Al ser reconocidas por las células endoteliales del órgano vasculosum de la lámina terminalis (OVLT) –redes de grandes capilares que rodean a los centros termorreguladores hipotalámicos –inducen, través de la expresión de la enzima ciclooxigenasa 2, la producción de mediadores lipídicos, las prostaglandinas (PG). Los niveles tisulares de PGE, que normalmente son indetectables en el cerebro, durante la fiebre están elevados en el tejido hipotalámico y en el III ventrículo. Algunas toxinas microbianas pueden estimular en forma directa la producción de PGE₂ hipotalámica, prescindiendo de las citosinas. La PGE₂, a su vez, estimula a las células gliales que liberan AMP cíclico. Este neurotransmisor determina que las neuronas del termostato hipotalámico, por disminución de la activación de las neuronas preópticas sensibles al calor y la excitación de las neuronas sensibles al frío, estimulen los mecanismos de termogénesis y regulen la temperatura corporal a un nivel más elevado que el normal, produciendo fiebre. ^(38,53)

Algunas infecciones virales del SNC, que inducirían la síntesis local –intracerebral- de citosinas pirogénicas por las células gliales y algunas neuronas, estimularían al centro termorregulador prescindiendo del OVLT. Es probable que fragmentos pequeños de pirógenos endógenos, capaces de atravesar la barrera hematoencefálica, y pirógenos endógenos cerebrales

producidos como respuesta a los pirógenos endógenos circulantes actúen de la misma manera. ^(38,53)

Los mecanismos termorreguladores involucrados en la génesis de la fiebre son los que el ser humano no febril utiliza para mantener la temperatura corporal normal en un ambiente frío. ^(38,53) (*Véase figura 1.3*)

Algunas pruebas sugieren que la fisiopatología enunciada puede tener caminos alternativos.

- Es muy probable la existencia de un importante complejo de criógenos endógenos (p.ej.; hormona melanocito - estimulante alfa, arginina vasopresina) que actuarían como techo térmico (límite superior de la respuesta febril, sobre la que existe escasa información bibliográfica), previniendo la elevación de la temperatura corporal central por encima de 41°C-42°C. ^(38,53)
- Algunos estímulos abdominales transmitidos por el vago son importantes agentes propiréticos.
- Es posible desencadenar fiebre en animales de experimentación que carecen de citosinas y sus receptores. ^(38,53)

Si bien el conocimiento de la fisiopatología de la fiebre ha progresado en los últimos años, se ignora si la fiebre en si misma – independientemente de la causa – es beneficiosa o nociva para el organismo. Está demostrado que, durante la fiebre a) algunos microorganismos (p. ej.: *Streptococcus pneumoniae*) pueden ser inhibidos directamente por la temperatura corporal elevada, mientras que otros se hacen más susceptibles al poder bactericida del suero y a los antimicrobianos, b) mejora la función inmunológica expresada por un incremento de la síntesis de anticuerpos, aumenta la activación de linfocitos T, la función de los neutrófilos y el metabolismo oxidativo de los macrófagos, y c) algunos antimicrobianos son más efectivos. Como contrapartida, la actividad de las células natural killer y la producción de linfocitos T citotóxicos se deteriora con la fiebre. Además las temperaturas extremas ($\geq 42^{\circ}\text{C}$) son deletéreas para los procesos inmunológicos que mejoran con la fiebre moderada (p.ej., se producen

cambios morfológicos en los neutrófilos, que sugieren daño celular significativo, al ser expuestos a 42°C in vitro o durante el golpe de calor). (38,53)

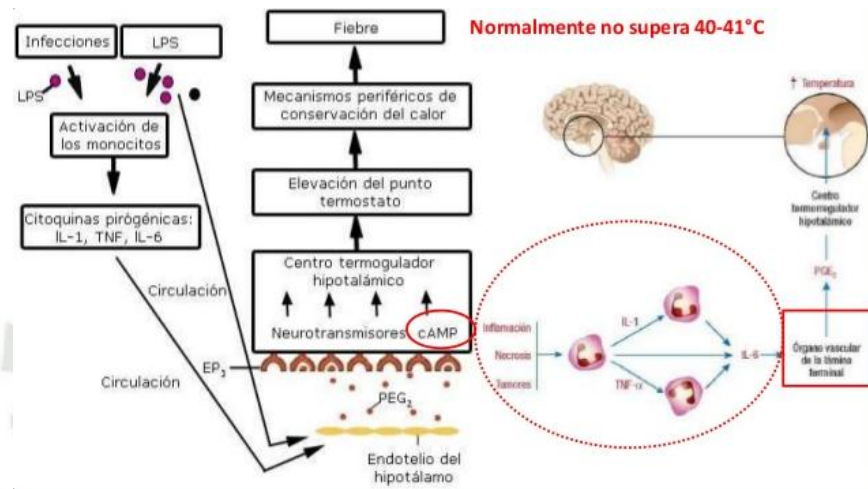


Figura 1.3 Fisiopatología de la fiebre

Fuente: Imagen obtenido del *Fundamentos de Fisiopatología*. 3ª Edición.

A pesar de la controversia, las pruebas indican que en los rangos usuales de fiebre, la mayoría de los mecanismos de defensa del huésped son más activos y que muchos patógenos son más susceptibles a éstos. Sin embargo, no existen estudios que demuestren que la fiebre mejora la evolución de las enfermedades infecciosas en humanos. (38,53)

La elevación de la temperatura corporal afecta, además, distintos procesos celulares; desde la síntesis de ácidos nucleico y proteínas hasta la permeabilidad de la membrana celular y la concentración citoplasmática de iones, por lo que se sospecha que temperaturas muy elevadas (>40°C) podrían dañar el SNC y otros sistemas orgánicos. En la fiebre, a diferencia de la hipertermia, la temperatura corporal sigue siendo regulada por el hipotálamo, y en un rango de 40-42°C no existen pruebas que demuestren un efecto deletéreo en el organismo. El paciente con daño cerebral y fiebre debe ser considerado una excepción, ya que la liberación de aminoácidos excitatorios, por la despolarización neuronal, potenciaría la lesión producida por hipoxia, isquemia o convulsiones repetidas o prolongadas. También pueden considerarse como excepciones la fiebre que aparece en el enfermo con circulación coronaria precaria (la fiebre induce taquicardia que aumenta

el consumo de O₂ del miocardio), en el plaquetopénico (la fiebre incrementa el defecto hemostático producida por la disminución de plaquetas), la mujer embarazada y el niño con convulsiones. ^(38,53)

1.2.4. Diagnóstico diferencial

En ocasiones, los registros térmicos mayores de 37.5 °C. en la cavidad oral pueden plantear el diagnóstico diferencial entre fiebre e hipertermia (que no es sinónimo de fiebre). Esta última se define como la elevación de la temperatura corporal por encima de los valores normales debido a; 1) producción excesiva de calor (p.ej.: ejercicio prolongado e intenso, reacciones adversas a neurolépticos y anestésicos, tirotoxicosis); 2) disminución de la disipación de calor (por temperatura y humedad ambiental elevadas, p.ej.: golpe de calor); y 3) pérdida de la regulación central (daño del centro hipotalámico termorregulador por traumatismo, hemorragia, tumor). ^(38,53)

Desde el punto de vista fisiopatológico, la hipertermia se produce por un fracaso de los mecanismos periféricos para mantener la temperatura corporal normal determinada por el hipotálamo. En la fiebre, el centro termorregulador, en respuesta a las citosinas, produce cambios en los mecanismos periféricos para generar y conservar calor hasta alcanzar un valor más elevado de temperatura corporal. Ambos procesos representan distintos mecanismos de elevación de la temperatura corporal, y esta diferencia es decisiva para la terapéutica. ^(38,53)

El diagnóstico diferencial entre fiebre e hipertermia habitualmente es difícil. Se basa en una minuciosa historia clínica y no en los registros térmicos o en su patrón (no obstante, valores $\geq 42^{\circ}\text{C}$ expresan hipertermia, que no es regulada por el SNC). ^(38,53)

El interrogatorio permitirá detectar eventos previos a la elevación de la temperatura como, por ejemplo, exposición al calor ambiental excesivo, producción exagerada de calor corporal por actividad física intensa o uso de algunas drogas. El hallazgo de una piel caliente y seca y/o el fracaso de los antipiréticos, sumados a un alto índice de sospecha, orientaran al

médico en el diagnóstico de hipertermia. Raramente la fiebre y la hipertermia pueden coexistir en un mismo paciente. ^(20,53)

1.2.5. Etiologías

La fiebre es una manifestación característica de la mayoría de las enfermedades infecciosas. No obstante, un sin número de enfermedades inflamatorias, traumáticas, mediadas inmunológicamente, metabólicas agudas, vasculares, hematopoyéticas, endocrinas, genéticas y tumorales pueden expresarse mediante fiebre. En el paciente inmunocompetente, la mayoría de las veces es una manifestación de una enfermedad infecciosa común, como infecciones de las vías superiores (resfrío común, gripe, faringitis), de la piel y de las partes blandas, de las vías urinarias o neumonía. ^(38,53)

1.2.6. Semiología

La medición de la temperatura corporal se realiza de manera sistemática en cada día de actividad médica. Sin embargo el origen de la práctica de medir la temperatura corporal, como signo para evaluar el estado de salud de un individuo, se desconoce. Las primeras referencias escritas, vinculadas con la fiebre, datan del siglo VI a.C. y hay pruebas de la existencia de dispositivos para medirla desde uno o dos siglos antes de Cristo. ^(38,53)

La manifestación cardinal de la fiebre es la elevación de la temperatura corporal normal entre 1°C. y 4°C. Para detectar la fiebre se pueden realizar las mediciones de la temperatura en la cavidad bucal, el conducto auditivo externo, la axila y el recto. De todos estos registros, el menos fidedigno es el que se obtiene de la axila. Las mediciones invasivas de la temperatura corporal central en la membrana timpánica, el esófago inferior y la arteria pulmonar se utiliza en forma excepcional en la clínica. Actualmente, la determinación en la cavidad bucal es el método más difundido en el mundo para medir la temperatura corporal de los adultos. La temperatura bucal puede resultar errónea en los fumadores, pues la vasodilatación de la mucosa bucal producida por el humo inhalado puede elevarla falsamente. Algunos estudios indican que las mediciones de la temperatura en la cavidad oral y en la axial son menos sensibles para determinar cambios en

la temperatura basal o fiebre con respecto a las realizadas en el recto o en la membrana timpánica. El registro de la temperatura rectal es motivo de controversia debido a los riesgos infecciosos que genera; en algunas situaciones esta formalmente contraindicado, por ejemplo en la neutropenia. Por otro lado, los termómetros electrónicos son superiores a los de mercurio y en algunos países – para proteger a las personas y al medio ambiente – existen recomendaciones para evitar el uso medicinal de mercurio, en especial para el termómetro. Por todo lo anterior es posible que en los próximos años la determinación de la temperatura corporal en el conducto auditivo externo con el termómetro electrónico se convierta en una práctica habitual. ^(38,53)

La percepción de la fiebre varía notablemente entre los individuos. Los pacientes febriles pueden tener síntomas sistémicos: quebrantamiento del estado general, debilidad, anorexia, artralgias y mialgias – sobre todo lumbalgias – (dolores musculares producidos por los niveles periféricos elevados de PGE₂) – cefalea, fotofobia y dolor al mover los ojos. Algunos toleran muy bien la fiebre, en cambio otros con los mismos registros térmicos se sienten muy enfermos. ^(38,53)

Si la temperatura corporal se eleva bruscamente, puede aparecer sudoración, rubor facial y escalofríos es común en algunas infecciones bacterianas con bacteriemia (p.ej.: neumonía, infección urinaria, colangitis). No obstante, puede haber escalofríos en algunas infecciones virales (gripe) y en la fiebre paraneoplásica de los linfomas. Es necesario diferenciar semiológicamente los escalofríos, acompañados por castañeteo de dientes y temblor de la cama, de la sensación de destemplanza que experimentan casi todos los pacientes febriles. A veces los escalofríos se desencadenan por el uso de antipiréticos que al producir un descenso brusco de la temperatura corporal, generan contracciones musculares involuntarias compensadoras. ^(38,53)

Existe una relación entre la temperatura corporal y otros signos vitales. La fiebre produce un aumento de 10 latidos en la frecuencia del pulso por cada grado de temperatura que supere los 37°C. En algunas enfermedades

febriles, el incremento es escaso o proporcionalmente menor. La coexistencia de fiebre con bradicardia relativa –disociación esfigmotermica- es indicadora de fiebre tifoidea, gripe, fiebre facticia, fiebre por drogas y brucelosis. La fiebre asociada con bradicardia relativa puede ser orientadora entre las distintas etiologías de una neumonía adquirida en la comunidad. La disociación esfigmotermica es característica de la neumonía por *Legionella*.^(38,53)

La fiebre puede estar acompañada por manifestaciones neurológicas inespecíficas, como convulsiones febriles en los niños. Los gerontes, los alcohólicos y los arterioescleróticos pueden desarrollar delirio, confusión mental o como cuanto tienen fiebre.^(38,53)

1.3. INFLAMACIÓN

1.3.1. Concepto

La inflamación puede definirse como una reacción de defensa de los seres vivos, de tipo inespecífico, frente a una gran variedad de causas que alteran su integridad y en virtud de las cuales se desencadenan reacciones sucesivas o simultáneas, nerviosas, humorales y celulares. Su objetivo es mantener dicha integridad, es decir destruir, neutralizar o eliminar el agente lesivo y reparar el trastorno que éste ha producido.^(7,53)

En ocasiones, la inflamación tiene consecuencias perjudiciales para el organismo, pudiendo producir su persistencia verdaderas enfermedades, y su intensidad, graves alteraciones. Existe, pues, una patología de la inflamación, aunque, en términos generales, constituya una reacción beneficiosa.^(7,53)

La inflamación es una reacción de defensa inespecífica porque la respuesta es siempre la misma, con independencia de la causa que la originó. Únicamente variará la intensidad y la duración de la respuesta, pero no los mecanismos básicos que constituyen la reacción inflamatoria.^(7,53)

1.3.2. Causas de la inflamación

Son múltiples, estas diferentes causas actúan produciendo la alteración de las células de un tejido, cuya magnitud es muy variable, desde cambios

moleculares hasta lesiones que se observan a simple vista. Esta alteración primaria, aunque no forma parte de la reacción inflamatoria, inicia, por estímulos nerviosos o por liberación de sustancias vasoactivas, los cambios hemodinámicos que inician la respuesta inflamatoria. (22,50)

Según la duración de la reacción inflamatoria, se distingue entre inflamación aguda y crónica, con aspectos morfológicos diferentes que se estudiarán más adelante. Sin embargo, cuando se habla de inflamación o respuesta inflamatoria sin calificación nos referimos a la inflamación aguda. (22,50)

La inflamación de órganos y tejidos se denomina en Medicina, añadiendo el sufijo “itis” al nombre del órgano o tejido afectado por el proceso inflamatorio, apendicitis, endocarditis, glomerulonefritis, etc.; aunque existen excepciones a esta norma, por ejemplo, neumonía, pleuresía. (7,53)

1.3.3. Componentes de la reacción Inflamatoria

La respuesta inflamatoria tiene tres componentes. Cambios hemodinámicos, alteraciones de la permeabilidad y modificaciones leucocitarias. (Véase figura 1.4)

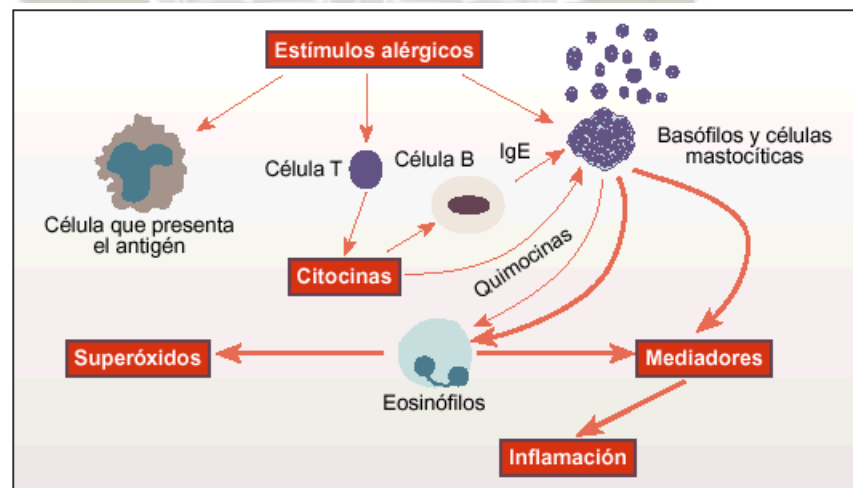


Figura 1.4 Mecanismo de acción de la inflamación.

Fuente: Imagen obtenido del libro *Fisiopatología de la enfermedad 6ta. Edición.*

1.3.3.1. Cambios Hemodinámicos

Es la primera reacción que se produce en el foco inflamatorio y allana el cambio para los otros componentes. Inicialmente, después de la agresión, hay un período transitorio de vasoconstricción arteriolar, de escasa duración, que provoca palidez pasajera. En las lesiones más graves, la vasoconstricción puede persistir durante cinco minutos. El mecanismo, posiblemente neurogénico, es desconocido; aunque algunos mediadores químicos pueden producir vasoconstricción. ^(38,53)

A continuación se produce una dilatación progresiva (fase de hiperacia activa) que afecta a las arteriolas; pero también, aunque en menor extensión, a las vénulas y capilares. A los pocos minutos la dilatación arteriolar es evidente y el flujo sanguíneo, así como su velocidad, aumentan de forma considerable, incluso se duplican. Estas acciones tempranas probablemente sean mediadas por reflejos axónicos; aunque quizá participen también sustancias del tipo de la histamina, como Lewis ha demostrado experimentalmente con la triple respuesta. ^(38,53)

La dilatación arteriolar es progresiva y como resultado, se produce ingurgitación de los vasos de la zona: la red capilar que en condiciones normales permanece cerrada ya que la sangre sigue vías más rápidas, es distendida por el aumento de la presión en el extremo arteriolar, permitiendo la apertura y el paso de la sangre por toda la red capilar. ^(38,53)

Entre 15 a 30 minutos, la velocidad del flujo sanguíneo disminuye (fase de hiperemia o congestión pasiva) hasta detenerse, y se acompaña de la dilatación más acentuada a nivel de los capilares y las vénulas. Esta fase venular y capilar está relacionada con la presencia de mediadores químicos, liberados en el foco inflamatorio. ^(38,53)

Como consecuencia de estos fenómenos fisiopatológicos se originan dos hechos inmediatos que van a modificar la situación hemodinámica: exudación de plasma, alteraciones del flujo laminar, alteraciones de la permeabilidad. ^(38,53)

1.3.3.1.1. Exudación de plasma

Durante la fase de hiperemia activa, con mayor flujo de sangre, se produce aumento de la presión hidrostática en el lecho capilar y fundamentalmente en la vénula, incapaz de dilatarse suficientemente para transportar el gran volumen de sangre que llega al foco inflamatorio. Al principio, este mecanismo (aumento de la presión hidrostática) podría aplicar la presencia de líquido (trasudado) en el espacio tisular. El trasudado tiene escaso contenido proteico (menos de 1g/100 mL) y, por consiguiente, baja densidad y escasa tendencia a coagularse. Sin embargo, con bastante frecuencia, el líquido del espacio tisular en la inflamación contiene mayor proporción de proteínas (1-6 g/100 mL), pudiendo llegar a ser similar a la del plasma. La presencia de este líquido, rico en proteínas (exudado), no puede explicarse solo por un aumento en la presión de filtración. El paso de proteínas a través de la pared del vaso se realiza por alteraciones de la propia pared vascular. La misma sustancia responsable de la dilatación de los capilares y las vénulas producen, sobre todo en estas últimas, alteraciones de la pared que tienen como consecuencia un aumento de la permeabilidad. ^(38,53)

La presión hidrostática elevada contribuye a la salida de mayor cantidad de plasma, cuya consecuencia es un aumento de la viscosidad de la sangre, con lo cual la circulación se dificulta, agravándose la estasis sanguínea. ^(38,53)

1.3.3.1.2. Alteraciones del flujo laminar

En condiciones normales, los elementos formes de la sangre circulan en la columna central de la corriente sanguínea y el plasma ocupa la parte más externa (zona plasmática), en contacto con las células endoteliales. Esta forma de circular los componentes sanguíneos se denomina flujo laminar. ^(38,53)

A medida que aumenta la salida de plasma y disminuye la velocidad de la sangre en el foco inflamatorio, la columna central se hace

mucho más estrecha. Los hematíes se conglomeran, formando agregados de gran tamaño que ocupan la porción central de la columna, mientras que los leucocitos quedan marginadas en la periferia. ^(38,53)

1.3.3.2. Alteraciones de la Permeabilidad

En la inflamación, existe un paso de líquido hacia los tejidos de cinco a seis veces mayor que en condiciones fisiológicas. Por otro lado, el alto contenido proteico del exudado inflamatorio, que puede ser similar al del plasma, indica la existencia de un proceso distinto al mecanismo fisiológico del transporte de líquidos. ^(38,53)

La apertura de las uniones intercelulares parece causada por la concentración de las células endoteliales, bajo la acción de los mediadores químicos. Hallazgos indirectos apoyan esta teoría, como es la presencia de miofibrillas en las células endoteliales, así como una proteína contráctil, similar desde el punto de vista antigénico a la actinmiosina. Los núcleos aparecen arrugados y hacen prominencia en la luz; lo que parece indicar la existencia de una contracción de la célula endotelial lo suficientemente violenta como para separar las uniones intercelulares. ^(38,53)

La membrana basal representa una segunda barrera al paso de proteínas y elementos formes de la sangre. Los leucocitos, tras un periodo pasajero de detención entre la célula endotelial y la membrana basal, atraviesan ésta y llegan al espacio tisular. ^(38,53)

1.3.3.3. Modificaciones Leucocitarias

El pasó de los leucocitos, principalmente polinucleares neutrófilos y monocitos, a través de la pared de los vasos sanguíneos, constituyen la fase celular más importante de la inflamación aguda. El camino que siguen los leucocitos desde la luz vascular hasta el espacio intersticial puede dividirse en los siguientes aparatos. ^(38,53)

1.3.3.3.1. Marginación y adherencia

Hemos explicado en el apartado anterior cómo los neutrófilos abandonan la porción central del flujo sanguíneo y son rechazados a la periferia (marginación), por la conglomeración de los glóbulos rojos. Con el microscopio de luz se observa que los leucocitos se adhieren a la pared de las vénulas, apareciendo éstas como pavimentadas. ^(38,53)

Al principio esta adherencia es transitoria; el leucocito vuelve a rodar sobre las células endoteliales para quedar definitivamente adherido en la superficie endotelial. Esta unión se realiza gracias a la expresión y/o activación en la superficie de ambas células de moléculas de adherencia. ^(38,53)

Existen tres familias de moléculas de adherencia: Las selectinas, las integrinas y las inmunoglobulinas. ^(38,53)

- Las selectinas, denominadas así por presentar una región terminal relacionada con las lectinas, por la cual se unen a sus ligandos, carbohidratos de los antígenos del grupo sanguíneo Lewis. Hay varias selectinas según la célula que expresa la molécula: E-selectina o ELAM-1 (célula endotelial). P-selectina (plaquetas y endotelio) y L-selectina o LAM-1. ^(38,53)
- La P-selectina se encuentra en el interior del citoplasma, en los cuerpos de Weibel-Palade y bajo la acción de algunos mediadores como la histamina, el PAF y la trombina se expresa en pocos minutos en la superficie celular. Es responsable junto con la L-selectina leucocitaria de la adherencia inicial de los leucocitos. La E-selectina no existe en el endotelio inactivado y su síntesis es desencadenada bajo la acción de las citosinas (IL-1 y FNT). Este proceso requiere varias horas. ^(38,53)
- La familia de las inmunoglobulinas comprende dos moléculas de adherencia de las células endoteliales: ICAM-1 y VCAM-1. Estas moléculas se unen a la integrinas leucocitarias. ^(38,53)

- Las integrinas son un grupo de glocuproteínas presentes en la membrana celular de los leucocitos, con baja afinidad para sus ligandos. Bajo la acción de las citosinas y otros agentes quimiotácticos que se produce una unión intensa entre estas moléculas y sus ligados ICAM-1 y VCAM-1. ^(38,53)

- **Emigración o Diapédesis.**

Una vez que los leucocitos se han unido de forma estable el endotelio emiten finos pseudópodos que se introducen entre las uniones intercelulares, separando las células endoteliales. Cuando el pseudópodo, actuando a modo de palanca, ha forzado el complejo de unión, el resto del cuerpo celular sigue al pseudópodo, hasta que el leucocito se encuentra en el espacio sub endotelial, donde permanece un cierto tiempo. Finalmente logra atravesar la membrana basal, pasando el espacio intersticial. ^(38,53)

La emigración de los leucocitos es un proceso ameboide activo que consume energía. Tiene lugar fundamentalmente en las vénulas y en menor grado en los capilares. Para que estas células atraviesen la pared vascular es preciso que sean móviles y deformables. La movilidad está en relación con la presencia de proteínas contráctiles (actina y miosina) en el citoplasma. La interacción de los filamentos de actina y miosina, concentrados en el pseudópodo, produce la contracción. ^(38,53)

La emigración de los leucocitos no deja una brecha permanente en el endotelio. Una vez que el leucocito ha atravesado la pared vascular, las células endoteliales vuelven a ponerse en contacto. A veces, el paso del leucocito va seguido de eritrocitos. Al contrario de la emigración leucocitaria, es un proceso pasivo, como si los glóbulos rojos aprovecharan la apertura momentánea del endotelio, para atravesar el vaso. ^(38,53)

1.3.3.3.2. Conglomeración

El acúmulo de leucocitos es el rasgo histológico fundamental de la inflamación aguda. Las células que emigran al espacio intersticial son, fundamentalmente, leucocitos polinucleares neutrófilos y, en

menor proporción, monocitos. Al principio predominan los neutrófilos, mientras que, en fases posteriores, son los monocitos el elemento celular que más abunda. Por esta causa se pensaba inicialmente que los neutrófilos emigraban en primer lugar y posteriormente lo hacían los monocitos. Sin embargo, los trabajos de Harris demuestran que ambas células emigran juntas, pero que, al ser más numerosos los neutrófilos, éstos predominan al principio en el foco inflamatorio. Los neutrófilos tienen una vida corta y degeneran en un tiempo que oscila entre algunas horas a 4 días, mientras que los monocitos se multiplican y persisten más tiempo en el foco inflamatorio. En consecuencia, después de 2 ó 3 días predomina los monocitos sobre los neutrófilos; así mismo, éstos liberan un factor quimiotáctico para los monocitos. ^(38,53)

Aunque la mayor parte de los procesos inflamatorios agudos se caracterizan por la presencia de neutrófilos y monocitos, en algunas inflamaciones puede observarse otro tipo de células (basófilos, eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas). ^(38,53)

1.3.3.3.3. Quimiotaxis

Por quimiotaxis se entiende el movimiento de una célula u organismo en una dirección determinada, desencadenado por una sustancia química. Diversas sustancias exógenas y endógenas actúan como factores quimiotácticos. Las exógenas más comunes son los productos bacterianos. Las endógenas más importantes ya han sido descritas y de forma resumida, son: el Cba, el LTB4 y las citosinas. ^(38,53)

Estos factores quimiotácticos, además de provocar el movimiento celular, inducen la activación leucocitaria, que tiene como consecuencia la producción de metabolitos del ácido araquidónico, liberación de enzimas lisosomales y la expresión de moléculas de adherencia. ^(38,53)

1.3.3.3.4. Fagocitosis

Ciertas células del organismo tiene la facultad de englobar partículas extrañas. Etimológicamente fagocitosis significa comer células. Este término se utiliza para designar la ingestión celular de partículas sólidas, como bacterias, fragmentos de células o material exógeno, mientras que pinocitosis significa la captación de líquido por la célula. En ambos procesos, fagocitosis y pinocitosis, se produce invaginación de la membrana celular, con formación de una vacuola intracitoplasmática. En la inflamación aguda, las células fagocíticas son los neutrófilos y los monocitos. Los neutrófilos fagocitan bacterias o inmunocomplejos. Los monocitos, además de fagocitar bacterias, protozoos y hongos, engloban también células neoplásicas, restos celulares, inmunocomplejos y cuerpos extraños. ^(38,53)

La fagocitosis es un proceso activo que consume energía. Primero, la partícula que va a ser ingerida necesita ser reconocida y unirse a la célula fagocítica. Este reconocimiento y unión está favorecido por sustancias procedentes del plasma, de naturaleza proteica, denominadas opsoninas. Existen dos opsoninas: la IgG y el C3b, llamado el fragmento opsónico del C3. Las opsoninas recubren la partícula y se unen a las células fagocíticas por los receptores que estas poseen en la membrana celular para el fragmento Fc de la IgG y para el C3b. Una vez puesta en contacto la partícula, se pone en marcha el englobamiento, proceso por el cual la célula emite pseudópodos que rodean a la partícula. Se produce una invaginación de la membrana celular, que se va cerrando por encima de la partícula, hasta que ésta queda incluida en el citoplasma, dentro de una vacuola fagocítica o fagosoma. Posteriormente la membrana de esta vacuola se fusiona con la de un gránulo lisosomal; éste vierte su contenido de enzimas hidrolíticas y de sustancias bactericidas en la vacuola fagocítica. Por la acción de estas sustancias se produce la degradación y destrucción del material fagocitado. ^(38,53)

Durante la desgranulación del fagocito, puede haber salida de las enzimas hidrolíticas y productos metabólicos (radicales de oxígeno), desde la célula al espacio intersticial. Este fenómeno, denominado regurgitación, puede causar lesión tisular por la potente actividad de las enzimas liberadas. ^(38,53)

Otros factores que favorecen la fagocitosis son los iones calcio, el pH ácido, la temperatura elevada y la existencia de factores mecánicos, como ciertas estructuras hísticas o filamentos de fibrina, que brindan puntos de apoyo o soporte a las célula fagocíticas. Este fenómeno se denomina fagocitosis de superficie. ^(38,53)

Algunos microorganismos resisten la degradación en el citoplasma de los macrófagos. En tales casos, éstos son incapaces de destruir las bacterias o de impedir su multiplicación, como ocurre con el bacilo de la lepra y el de la tuberculosis. Estos gérmenes se encuentran protegidos, en el interior de los macrófagos, de la acción de los anticuerpos y los antibióticos. Además, la movilización de los macrófagos por vía linfática constituye un riego de diseminación de la infección. En este caso, la fagocitosis no constituye un mecanismo protector. ^(38,53)

1.3.4. Características Macroscópicas de la Inflamación

El aspecto macroscópico de la inflamación se conoce bien desde la antigüedad y está definido por los cuatro signos cardinales de Celso: rubor, tumor, calor y dolor. El rubor o enrojecimiento es producido por la vasodilatación y la estasis sanguínea. La hinchazón o tumor resulta del exudado consecutivo al aumento de la permeabilidad vascular. La sensación de calor se atribuye al aumento de flujo y a su velocidad acelerada. Varios factores contribuyen al dolor; los más importantes son la distensión del tejido y la presencia de mediadores químicos. Entre éstos, la prostaglandina E2 parece tener un papel importante en la producción de dolor; pero también las quininas, la histamina y los metabolitos derivados de la desintegración celular, coadyuvan en la producción de dolor. ^(7,53)

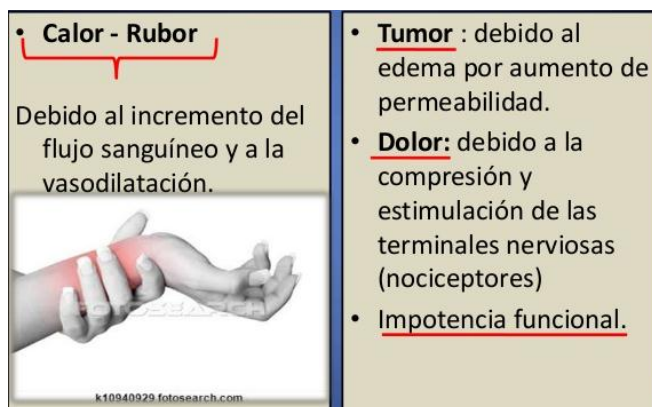


Figura I.5 Manifestaciones locales del proceso.

Fuente: Imagen obtenido del libro *Fisiopatología de la enfermedad: Una introducción a la medicina clínica*. 6ta. edición.

1.4. ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

A pesar de la introducción de nuevos fármacos, el ácido acetilsalicílico (aspirina) es el antiinflamatorio y analgésico-antipirético más recetado y constituye el compuesto estándar en la comparación y evaluación de otros productos. Sólo en E.E.U.U se consumen en promedio, de 10000 a 20000 toneladas cada año. ^(13,27)

La aspirina es un analgésico casero más común, aunque dado que es posible conseguirlo sin problemas, quizá no se advierte las consecuencias graves que se pueden originar por su mal uso y abuso y efecto tóxicos graves, y puede ser causa frecuente de intoxicación en niños, que a veces causa la muerte. ^(13,27)

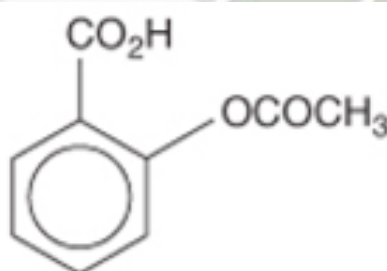


Fig. I.2. Ácido Acetilsalicílico.

Fuente: Imagen obtenido del libro *Pharmacology*. 4ª Edición.

1.4.1. Farmacocinética

La aspirina es un ácido débil, en general los salicilatos son ácidos orgánicos que se absorben con rapidez en el estómago y en la porción superior de intestino delgado, lo que origina una concentración máxima en plasma de estos fármacos en 1 a 2 horas. Esto debido a que en el estómago la aspirina se encuentra no ionizada lo que promueve su absorción por difusión simple. ^(13,35)

La aspirina se absorbe como tal y se hidroliza a ácido acético y salicilato (metabolito activo) por las esterasas localizadas en la mucosa del TGI y del hígado (efecto de primer paso). El salicilato se fija intensamente a las proteínas plasmáticas y es metabolizado en el hígado. Pero este grado de metabolización va a ser dependiente de la forma farmacéutica en que se presente la aspirina, así, en formas efervescente la absorción es más rápida y la metabolización se reduce, en cambio en formas de liberación controlada la absorción es más lenta pero la metabolización es mayor. De lo que deducimos que el metabolismo de la aspirina es saturable, ya que a mayor dosis disminuye su metabolismo y aumenta su tiempo de vida media. Los alimentos retrasan pero no impiden la absorción de la aspirina. ^(13,35)

El salicilato para su posterior eliminación sufre procesos de fase I y II obteniéndose como metabolitos inactivos a: 1) su conjugado con ácido glucorónico, 2) conjugado con glicina y 3) productos provenientes de la oxidación del salicilato. Además parte se elimina por la orina en forma de salicilato libre. ^(13,35)

El AAS se excreta principalmente por la orina en forma de conjugados de salicilato.

La alcalinización de la orina aumenta la velocidad de excreción del salicilato libre y sus congéneres solubles en agua. ^(13,35)

1.4.2. Farmacodinamia:

1.4.2.1. Mecanismo de acción

Sus efectos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios se deben a las asociaciones de las porciones acetilo y salicilato de la molécula intacta, como también a la acción del metabolito activo salicilato. El efecto antiagregante plaquetario se debe a su capacidad como donante del grupo acetilo a la membrana plaquetaria y a la inhibición irreversible de la enzima ciclooxigenasa. Inhibe la actividad de la enzima ciclooxigenasa lo que disminuye la formación de precursores de las prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico. Aunque la mayoría de sus efectos terapéuticos pueden deberse a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en diferentes tejidos, hay otras acciones que también contribuyen. ^(12,22)

1.4.2.2. Acciones farmacológicas

- *Efectos analgésicos con dosis INTERMEDIAS y uso PUNTUAL y DISCONTINUO:* la aspirina es el analgésico más eficaz para reducir el dolor de intensidad leve a moderada. Actúa periféricamente por medio de sus efectos sobre la inflamación, pero es probable que también deprima el estímulo doloroso a nivel del SNC. Su acción analgésica es mayor al del salicilato sódico. ^(13,27)
- *Efectos antipiréticos con dosis INTERMEDIAS y uso PUNTUAL y DISCONTINUO:* La aspirina reduce la temperatura elevada, en tanto que la temperatura corporal normal sólo se afecta ligeramente. El efecto antipirético de la aspirina está mediado tal vez de la inhibición de las COX en el SNC. ^(13,27)
- La reducción de la temperatura se relaciona con un aumento en la disipación del calor originado por vasodilatación de los vasos sanguíneos superficiales y puede acompañarse de bastante sudoración. ^(13,27)
- *Efectos antiinflamatorios con dosis ELEVADAS y consumo CRÓNICO:* La aspirina es un inhibidor no selectivo de ambas

isoformas de COX, pero a diferencia de muchos AINE, la aspirina inhibe de manera irreversible a la COX y aún a dosis bajas pueden resultar eficaces en ciertas circunstancias, por ejemplo, para inhibir la agregación plaquetaria. ^(13,27,35)

- *Efectos plaquetarios con dosis BAJAS y consumo CRÓNICO:* La aspirina afecta la hemostasia. Las dosis bajas simples de aspirina (80mg/día) originan un tiempo de sangrado ligeramente prolongado, que se duplica si la administración se continúa durante una semana. El cambio se debe a inhibición irreversible de COX plaquetaria, así que el efecto de la aspirina dura de 8 a 10 días (toda la vida de la plaqueta). En general la aspirina debe suspenderse una semana antes de una cirugía, para evitar complicaciones hemorrágicas. ^(13,27)

1.4.3. Indicaciones

Analgesia, antipirexis y efectos antiinflamatorios: La aspirina es uno de los fármacos que con mayor frecuencia se utilizan para reducir el dolor leve a moderado de origen diverso, pero no es eficaz para dolor visceral intenso, por ejemplo, infarto de miocardio, renal o cólico biliar. A menudo la aspirina se combina con otros analgésicos leves, nunca se ha demostrado que las combinaciones más costosas sean más eficaces o menos tóxicas que la aspirina sola. Las formas efervescentes están indicadas para el alivio de dolores agudos, por su rápida absorción y eliminación ya que el bicarbonato presente en estas formulaciones promueven la alcalinización y consecuente ionización del salicilato, sin embargo, por las mismas razones no son poco eficaces para el tratamiento del dolor crónico. ^(13,27,35)

Las formas de liberación controlada en cambio están más indicadas en el tratamiento del dolor crónico, debido a que los microencapsulados presentes en estas formas prolongan el tiempo de vida media y reduce las concentraciones máximas en plasma, dando como resultado niveles plasmáticos adecuados de fármaco, y también por estas mismas razones no son eficaces en el alivio rápido del dolor agudo. ^(13,27,35)

Debido a las propiedades antiinflamatorias de las altas dosis de salicilatos, éstos se recomiendan como tratamiento de artritis reumatoide, fiebre reumática y otras afecciones inflamatorias de las articulaciones. La aspirina es también un antipirético eficaz, aunque su empleo tiene que ser observado en ciertas circunstancias que se ven en RAM. ^(13,27,35)

Para el tratamiento de jaquecas se recomienda solo cuando las crisis son moderadas y a menos de dos por mes, si las crisis son mayores en intensidad y frecuencia ya será necesario ergotamina. ^(13,27,35)

Otros efectos: se ha demostrado que la aspirina reduce la incidencia de ataques transitorios de isquemia, angina inestable, trombosis de la arteria coronaria con infarto del miocardio. ^(13,27,35)

1.4.4. Posología

- Dosis *analgésica y antipirética* óptima de la aspirina es menor a 600mg por vía oral que casi siempre se emplea (incluso a dosis única). Dosis más altas pueden prolongar el efecto. La dosis usual es de 500 mg cada 4 a 6 horas y es posible administrar dosis más bajas (300mg) cada tres horas. La dosis máxima es de 8 comprimidos de 500 mg diarios. ^(13,27,35)
- Dosis *antiinflamatoria* de los salicilatos es cada 8-12 horas, ya que cada 4 o 6 horas no podría ser tolerado por el estómago. La dosis es de 3 a 12 (máximo) comprimidos de 500mg diarios. ^(13,27,35)
- La dosis para niños es de 50 a 75mg/Kg/día (pero nunca una dosis mayor a la de un adulto) en dosis divididas. No debe utilizarse en niños menores de 12 años con infecciones virales. ^(13,27,35)

1.4.5. RAM (Reacción Adversa al Medicamento)

A la dosis usual, el principal efecto adverso de la aspirina es el malestar gástrico (intolerancia). Este efecto puede reducirse con un amortiguamiento adecuado (ingiriendo la aspirina con alimentos, seguida de un vaso de agua o antiácidos). La gastritis que se presenta con la aspirina tal vez se deba a la irritación de la mucosa gástrica por la tableta no disuelta, la absorción en el

estómago de salicilato no ionizado o la inhibición de producción de prostaglandinas de protección. Esta rémora puede mitigarse mediante formas de liberación contralada o tabletas efervescentes tamponadas. Las primeras promueven la total absorción a nivel del duodeno y las segundas facilitan su total absorción por la dilución previa. Para la total dilución y reducir la cantidad de AAS presente en tabletas o cápsulas en la mucosa gástrica se recomienda la ingesta con un vaso entero de agua o leche. (13,27,35)

Las dosis altas antiinflamatorias pueden provocar tinnitus.

Su uso está contraindicado en niños menores de 12 años con procesos virales (gripe o varicela) ya que pueden desarrollar Síndrome de Reye que es una encefalopatía aguda con degeneración grasa del hígado. (13,27,35)

1.4.6. Contraindicaciones

- Está contraindicado en forma absoluta en pacientes con hemorragia del TGI y cuagulopatías. (13,27,35)
- En dengue hemorrágico.

1.4.7. Interacciones

Las tabletas efervescentes se deben tomar entre dos y 6 horas antes de cualquier otra medicación. Los agentes alcalinizantes (antiácidos y citratos) promueven la eliminación rápida de los salicilatos, estos por su fuerte unión a proteínas plasmáticas pueden desplazar a otros medicamentos aumentando su fracción libre y sus potenciales Ram (ej., anticoagulantes orales); el alimento retrasa pero no disminuye su absorción, detalle que hay que tener en cuenta cuando se desee una analgesia rápida. Al administrar conjuntamente vancomicina con salicilatos aumenta el riesgo de ototoxicidad. (13,27,35)

1.4.8. Toxicidad

La aspirina es un fármaco tan común en el hogar que fue causa frecuente de envenenamiento en niños pequeños. Desde que se introdujeron frascos resistentes a las manipulaciones de los niños, han disminuido de manera

significativa estos envenenamientos infantiles ocasionados por este fármaco. ^(13,27,35)

En general la dosis letal varía de acuerdo a la forma de presentación del fármaco, en adultos basta de 10 a 30g de aspirina (de 20 a 60 comprimidos de 500mg) para producir la muerte. ^(13,27,35)

Cuando se presenta una sobredosis, ya sea accidental o por intento suicida, se recomienda el lavado gástrico. Puede emplearse infusiones de bicarbonato de sodio para alcalinizar la orina, lo cual aumentará la cantidad de salicilato excretado. ^(13,27,35)

1.5. FUNDAMENTOS DE LOS MODELOS FARMACOLOGICOS DE EVALUACION.

1.5.1. Antipirético: medición con termómetro rectal

Es un instrumento que permite medir la temperatura. Se usó el termómetro de mercurio que consta de un bulbo de vidrio que incluye un pequeño tubo capilar, este contiene mercurio (u otro material con alto coeficiente de dilatación) que se dilata de acuerdo a la temperatura y permite medir sobre una escala graduada.

Para medir con el termómetro existen varias escalas de temperaturas, la que se usó fue Celsius: esta una de las más populares entre los termómetros convencionales, existe desde 0 °C a 100 °C.

Levadura de cerveza.

La fiebre inducida por la levadura de cerveza (*Saccharomyces Cerevisiae*) en ratas puede aumentar la formación de citoquinas que aumentan la síntesis de prostaglandina E2 y, por lo tanto, el hipotálamo elevará la temperatura corporal.

1.5.2. Antiinflamatorio: medición con Pletismómetro Digital LE 7500

Es un instrumento utilizado para determinar la variación de volumen de las extremidades de los roedores, midiendo la variación del nivel de líquido al introducir la extremidad en un depósito.

La introducción de un tejido (u objeto) en el recipiente cambia el nivel de líquido y la conductividad entre dos electrodos de platino previamente introducidos en el recipiente. Este cambio se expresa en mililitros con una resolución de 0.01 ml.

Carragenina.

Consiste en provocar un edema en la región subplantar de la pata de la rata mediante la inyección de un agente flogógeno (carragenina), este mucopolisacárido de origen marino provoca una respuesta inflamatoria caracterizada por una serie de fases. La primera es precoz y debida al trauma de la inyección; a la que sigue un proceso bifásico mediado por diferentes autacoides: en la primera etapa, que se extiende durante la primera hora, intervienen aminas vasoactivas como la histamina y serotonina, mientras que en la segunda etapa, comprendida entre 1,5 y 2,5 horas, intervienen las cininas. En una fase tardía, desde las 2,5 a las 6 horas, las prostaglandinas son los principales mediadores de la inflamación ⁽⁶⁸⁾



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio pertenece al tipo de investigación experimental, que es aquella donde el investigador manipula las variables con la intencionalidad ver efectos. ⁽²³⁾ Dentro de este tipo de estudios pertenece al exploratorio porque son los primeros estudios que trata de explicar el fenómeno de antiinflamatorio y antipiresis que la población señala al lloque.

2.2. LUGAR DE REALIZACIÓN

La investigación teórica del problema de investigación se llevó a cabo en la biblioteca de la Universidad Católica de Santa María, la obtención del extracto así como el análisis fitoquímico preliminar se desarrolló en el laboratorio de Farmacognosia (H-103) también de la misma universidad así como el Bioterio en donde se realizó la evaluación relacionada al efecto antiinflamatorio y antipirético de la especie vegetal bajo estudio.

2.3. MATERIAL BIOLÓGICO

2.3.1. Muestra Vegetal

La muestra vegetal estuvo conformada por las hojas frescas de *Kageneckia lanceolata* (lloque), proveniente del distrito de Carumas, provincia de Mariscal Nieto en el departamento de Moquegua.

2.3.2. Muestra animal

La muestra animal estuvo conformada por animales de experimentación machos pertenecientes a la raza *Holtzman*, especie *Rattus Rattus*, variedad *Albina*, las que fueron adquiridas del Bioterio de la universidad Católica de Santa María. Las características de los animales fueron las siguientes.

- 25 ratas machos.
- Peso: entre 210 y 245g.
- Edad: entre 3 y 4 meses.

2.4. MATERIALES DE LABORATORIO

2.4.1. Material de vidrio

- Balón de destilación de 500 mL (NORMAX)
- Matraz Erlenmeyer de 100 mL (PIREX)
- Pipetas graduadas de 1 a 10 mL (PIREX)
- Probetas de 50 y 100 mL (PIREX)
- Tubos de ensayo (PIREX)
- Varillas
- Vasos de precipitados de 100 mL, 250 mL (BOECO)
- Baguetas (BOECO)
- Capilares sin heparina (DELTA)
- Cubas de desarrollo cromatográfico
- Fiolas (PIREX)

2.4.2. Equipos de laboratorio

- Balanza analítica (PIONER TM OHAUS)
- Equipo Soxhlet (HEEDING)

- Equipo de Rotavapor (BUCHI)
- Pletismómetro digital LE 7500.
- Estufa de desecación (MEMMERT SCHUTZART DIN 40050 - IP20)
- Lámpara de luz UV (CAMAG UV 254 – 366nm)
- Mechero Bunsen.

2.4.3. Reactivos y otros insumos.

- Acetato de etilo (MALLINCKRODT) 99.6% - 100%
- Ácido acético (MERCK)
- Ácido fórmico (MERCK) 98-100%
- Ácido sulfúrico concentrado 95-98% (MERCK) 95-97%
- Agua destilada (QUIMICA DELTA)
- Hexano Q.P. (J.T.BAKER) C: 83.62 %, H: 16.38 %.
- Cloruro de aluminio (MERCK) 97-101%
- Cloruro férrico (MERCK)
- Etanol 96% (Laboratorio PORTUGAL)
- Metanol Q.P. (MERCK)
- Reactivo de Dragendorff (elaboración U.C.S.M.)
- Reactivo de Liebermann Burchard (elaboración U.C.S.M.)
- Tolueno (MERCK) 99%
- Caboximetilcelulosa (LABOCHINI)
- Tween 20 (MERCK)
- Vainillina
- Tritón

2.4.4. Material farmacológico

- Ácido acetilsalicílico 500 mg (BAYER)
- Carragenina 2%
- Levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*)

2.4.5. Otros

- Algodón (Laboratorio STERILAB)
- Cinta adhesiva
- Espátula
- Frasco de vidrio color oscuro
- Gorro de laboratorio (Laboratorio CEMEDIC SAC)
- Guantes quirúrgicos (Laboratorio CEMEDIC SAC)
- Jeringa de tuberculina (SEGURIMAX)
- Mascarilla
- Papel filtro (QUIMICA DELTA)
- Placas de sílica gel (MERCK)
- Plumón marcador (FABER CASTELL)
- Sonda orogástrica (UCSM)
- Termómetro rectal (Laboratorio CEMEDIC SAC)
- Baño maría
- Cocinilla eléctrica
- Cámara fotográfica (SAMSUNG)
- Regla.
- Pinzas.
- Jaulas metálicas.
- Olla metálica.

2.5. OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS HOJAS DE *kageneckia laceolata* (lloque)

2.5.1. Método de Recolección

Las muestras se recolectaron en el mes de setiembre en las primeras horas de la mañana del distrito de Carumas, provincia de Mariscal Nieto en el departamento de Moquegua.

Se cortaron ramas con hojas, estas fueron colocadas en bolsas de papel (bolsas de azúcar) para su traslado Arequipa y una parte de la planta se llevó para su identificación taxonómica a la Facultad de Ciencias Biológicas departamento académico de Biología Herbarium Arequipence (HUSA) de la Universidad

2.5.2. Método de Selección

Se procedió a seleccionar solo las hojas que se encontraban en buen estado.

2.5.3. Método de Estabilización

Fue mediante calor seco en estufa, el material debidamente seleccionado fue sometido a un cambio de temperatura al ser introducido en la estufa previamente calentada a 90°C, permaneció en su interior durante 3 minutos.

2.5.4. Método de Desección

Se utilizó el método de calor artificial, mediante estufa en donde se introdujeron las hojas estabilizadas, la estufa estuvo a una temperatura de 40°C y la desecación demoró 3 horas con 30 minutos aproximadamente por cada “lote” a desecar.

2.5.5. Método de Trituración

Se trituraron en un mortero, hasta la obtención de un polvo con un grado moderado de material vegetal, con el fin de incrementar la superficie de contacto durante la extracción con solvente.

2.6. OBTENCION DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE *kageneckia laceolata* (lloque)

2.6.1. Método

Extracción con equipo de Soxhlet.

2.6.2. Fundamento

La extracción sólido-líquido, se usa a menudo para extraer un compuesto, a partir de su fuente natural, tal como una planta. Se escoge un solvente que selectivamente disuelva el compuesto deseado, pero que deje los sólidos insolubles indeseados en la fuente natural. ⁽¹⁷⁾

El sólido que se va extraer se coloca en un dedal hecho de papel filtro, vidrio, porcelana porosa o fibra de vidrio. El dedal se inserta en el centro de la cámara de extracción. Un solvente de bajo punto de ebullición se coloca en el balón de destilación de fondo redondo y se calienta hasta reflujo. Los vapores suben hacia el condensador. El líquido condensado cae dentro del dedal que contiene el sólido. El solvente caliente empieza a llenar el dedal y extrae el compuesto deseado a partir del material vegetal. Una vez que el dedal se llena con el solvente, el sifón hace que el solvente con el compuesto deseado disuelto se regrese dentro del balón de destilación. El ciclo vaporización – condensación- extracción- evacuación por el sifón, se repite varias veces y el producto deseado se concentra en el balón de destilación. ⁽¹⁷⁾ (Véase figura II.1)

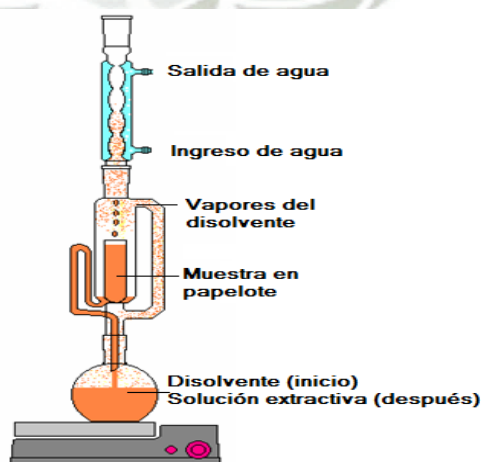


Figura. II.1. Esquema de destilación Soxhlet. ⁽¹⁷⁾

2.6.3. Procedimiento

- Se pesó 10g de hojas de *Kageneckia lanceolata* (lloque) secas y trituradas.
- La muestra pesada se depositó en un papelote hecho con papel filtro.
- En el balón de destilación se depositó 150mL de cada solvente (hexano, acetato de etilo y etanol), se trabaja con los 3 disolventes para determinar cuál de ellos extrae mayor cantidad de principio activo. (*Véase cuadro II.1*)
- Se procedió a armar el equipo colocando sobre el balón el tubo de extracción y sobre este un condensador de bolas.
- Se encendió la cocinilla eléctrica y se inició la extracción y una vez terminada de dar los 6 ciclos en diferentes tiempos por cada disolvente. (*Véase figura II.2*)

Cuadro II. 1 : Extractos obtenidos con diferentes disolventes

Extracto A	Extracto B	Extracto C
10.0 g muestra	10.0 g muestra	10.0 g muestra
150 mL Hexano	150 mL Acetato de etilo	150 mL Etanol
6 ciclos de extracción	7 ciclos de extracción	9 ciclos de extracción



Figura. II.2. Extracción de Lloque con equipo Soxhlet

2.7. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS

2.7.1. Método

Evaporación a sequedad

2.7.2. Fundamento

El porcentaje de rendimiento de extracción (%RE) se fundamenta en la obtención del extracto concentrado a partir de la separación del solvente del principio activo aplicándose a una temperatura adecuada y sometiendo al extracto hasta baño María hasta evaporación total del solvente quedando suspendido en el fondo el principio activo que se desea obtener. ⁽⁶⁵⁾

2.7.3. Procedimiento

Una vez terminada la extracción en Soxhlet, se pasaron los extractos (hexano, acetato de etilo y etanol) a un balón para su evaporación mediante el equipo de rotavapor, se utiliza este equipo ya que el vacío que genera permite disminuir el punto de ebullición del disolvente orgánico, seguidamente se terminó su concentración en Baño María en un vaso precipitado previamente pesado. (*Véase figura II.3*)

Dejamos enfriar los vasos precipitados con los extractos blandos para luego pesarlos y registrar sus masas hasta que mantengan pesos constantes.

Con los registros obtenidos se calculó el porcentaje de rendimiento del extracto y calcular la dosis de los tratamientos.

Posteriormente los extractos blandos se utilizaron para la evaluación piloto (hexano, acetato de etilo y etanol) y para la evaluación experimental parte final (extracto que tuvo mejor efecto en la etapa preliminar).

$$\% RE = \frac{\text{Peso extracto seco}}{\text{Peso planta seca}} \times 100$$



Figura. II.3. Concentración del extracto mediante rotavapor

2.8. ANÁLISIS FITOQUIMÍCO

2.8.1. Método:

Cromatografía en capa fina.

2.8.2. Fundamento

La cromatografía en capa fina o capa delgada, es una forma de cromatografía de adsorción sólido-líquido, que consiste en la separación de componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana. ^(62,63)

En esta técnica, la muestra que será analizada, se aplica por medio de un tubo capilar muy fino sobre la superficie de un adsorbente inerte de sílica o alúmina (fase estacionaria). ^(62,63)

Inicialmente la muestra aplicada en la placa es adsorbida en la superficie del materia por la acción de las fuerzas electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrogeno, etc. Luego, cuando la capa es expuesta aun flujo líquido (fase móvil), por acción de capilaridad se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente. ^(62,63)

Antes de que alcance el extremo superior de la placa, se detiene el flujo de disolvente retirando la placa de la cámara de desarrollo. Se debe señalar la posición de la mancha de sustrato, si esta es coloreada su localización es inmediata; si es incolora, debe hacerse visible en algún modo, mediante alguna técnica de revelado cromatográfico o bajo la luz UV. Posteriormente se mide el recorrido de la mancha correspondiente a cada componente, para poder determinar los valores de R_f , los cuales expresan la relación entre el recorrido de cada componente de la mezcla con respecto al recorrido del solvente. ^(62,63)

2.8.3. Procedimiento

Se utilizó como fase estacionaria las placas de sílica gel con soporte de aluminio las cuales tuvieron dimensiones de 3x10cm, se trazó suavemente con un lápiz para guiarnos al momento de la siembra, se lavaron y secaron las cubas cromatográficas y con la ayuda de un mechero se procedió a elaborar los capilares para la siembra del extracto.

Una vez listo todos los materiales y reactivos se procedió a la preparación de reveladores y fases móviles, se procedió a sembrar las placas con el extracto que se obtuvo. Se adicionó a cada cuba cromatográfica un volumen suficiente de fase móvil, (respectiva para cada tipo de identificación), para que entre en contacto con el extremo inferior de la placa, pero sin llegar a tocar la siembra, se tapó la cuba y se dejó que corra la muestra sembrada hasta que alcanzo cerca de 1-2 cm del borde superior de la placa. Se sacó la placa de la cuba y cuidadosamente se marcó hasta donde corrió la fase móvil. A continuación se dejó secar a temperatura ambiente, luego se roció con el revelador respectivo y de acuerdo a protocolo se deja secar en estufa o temperatura ambiente; ya lista la placa se llevó a lámpara UV donde se observó las diversas fluorescencias distintivas para cada identificación de metabolitos secundarios. (*Véase cuadro II.2*)

Cuadro II. 2 Principales proporciones de solventes utilizados.

Metabolito secundario	Acetato de etilo	Ácido acético	Ácido fórmico	Agua	Metanol	Tolueno
Terpenos	95	--	--	--	--	5
Flavonoides	50	10	10	30	--	--
Taninos	--	--	--	30	70	--
Alcaloides	--	70	--	20	10	--

2.8.4. Revelado

La detección de metabolitos secundarios fue mediante el rociado de reactivos reveladores. (*Véase cuadro II.3*)

Cuadro II. 3 Reveladores de metabolitos secundarios.

Metabolito secundario	Reactivo revelador	Composición
Terpenos	Liebermann Burchard	5mL de ácido acético y 5mL de ácido sulfúrico concentrado. en 50mL de etanol
Flavonoides	Al Cl ₃	Cloruro de aluminio 1g etanol c.s.p. 100mL
Taninos	Fe Cl ₃	Cloruro férrico 1g, etanol c.s.p 100mL
Alcaloides	Dragendorff	Solución A: 0,85 g de nitrato básico de bismuto en 10mL de ácido acético y 40mL de agua tibia. Solución B: 8 g de yoduro de potasio en 30mL de agua destilada. Solución Stock: Mezclar Ay B (1:1)

2.9. MÉTODOS PARA LA EVALUACIÓN BIOLÓGICA

2.9.1. Consideraciones Generales

La evaluación biológica *in vivo* de la planta bajo estudio consistió en la indagación de dos probables acciones farmacológicas, la acción antipirética disminución de la temperatura corporal anormalmente elevada

y la acción antiinflamatoria la disminución del volumen de tejido inflamado. Ambos objetivos de investigación presentaron aspectos generales y comunes los que se pasan a detallar a continuación:

2.9.2. Estandarización de la muestra animal

Se trabajó con ratas de raza *Holtzman*, especie *Rattus Rattus* de sexo macho y con un peso promedio de 227g. Todas adquiridas en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

Todos los animales fueron sometidos a las mismas condiciones de alimentación y crianza, previo a la experimentación tanto para el efecto antipirético y antiinflamatorio:

- Cada animal permaneció en jaulas individuales y en un mismo ambiente (Bioterio de la universidad) por lo que recibió las mismas horas de iluminación y penumbra.
- Todos los animales recibieron la misma dieta balanceada.
- Todos bebieron agua a demanda.
- Todos los animales recibieron alimentación solida hasta 12 horas antes del inicio de las experimentaciones.

2.9.3. Aleatorización de la muestra animal

La distribución de los animales en cada uno de los grupos experimentales fue en forma aleatoria, para ello previamente se identificó cada animal, pintando su pelaje en determinadas zonas, posteriormente se procedió a registrar su peso corporal para luego proceder grupos al azar, a medida que sea, elegidos bajo este sistema se conforma los grupos.

2.9.4. Evaluación piloto

Para ambas experimentaciones se realizaron evaluaciones piloto con la finalidad de evaluar previamente si existía alguna manifestación de acción farmacológica respecto al grupo control, para ello se trabajó con los siguientes disolventes (hexano, acetato de etilo y etanol) dentro de un esquema de experimentación con un número reducido de animales, con esta se evaluaría qué extracto según su naturaleza del disolvente presenta

algún efecto farmacológico y así trabajar solo con un extracto a razón de 800mg/kg de peso.

2.9.5. Vía de administración y dosis

La vía de administración de los extractos fue oral, para ello el extracto fue disuelto en un vehículo consistente de agua, carboximetilcelulosa (CMC) y tween 20.

La dosis a administrar para la evaluación piloto fue de 800mg/Kg, la dosis fue elegida porque se trata de un extracto concentrado, además pretendemos observar bajo un esquema piloto un efecto farmacológico notable, lo que no se lograría evidenciar con una dosis menor y con un número reducido de animales de experimentación.

Para la evaluación final además de la dosis de 800mg/kg proveniente de evaluación piloto, se adicionó dos dosis menores de 400mg/kg y 200mg/kg con la finalidad de verificar a que dosis farmacológica del extracto hace el efecto estudiado. (*Véase figura II.5*)



Figura. II.5. Administración oral de los tratamientos

A) Grupo piloto antipirético y antiinflamatorio

- Grupo control: constituido por 3 animales de laboratorio a los que no se administró tratamiento alguno.
- Grupo experimental 1: constituido por 3 animales de laboratorio a los que se les administró extracto blando de hexano por vía oral a una dosis de 800mg/Kg.

- Grupo experimental 2: constituido por 3 animales de laboratorio a los que se les administró extracto blando de acetato de etilo por vía oral a una dosis de 800mg/Kg.
- Grupo experimental 3: constituido por 3 animales de laboratorio a los que se les administró extracto blando de etanol por vía oral a una dosis de 800mg/Kg.

B) Grupo final antipirético y antiinflamatorio

- Grupo control negativo: constituido por 5 animales a los que no se administró tratamiento alguno.
- Grupo experimental 1: constituido por 5 animales a los que se les administró extracto blando de etanol por vía oral a una dosis de 200 mg/Kg.
- Grupo experimental 2: constituido por 5 animales a los que se les administró extracto blando de etanol por vía oral a una dosis de 400 mg/Kg.
- Grupo experimental 3: constituido por 5 animales a los que se les administró extracto blando de etanol por vía oral a una dosis de 800 mg/Kg.
- Grupo control positivo: constituido por 5 animales a los que se administró ácido acetyl salicílico, utilizándose 100mg/Kg por peso.

2.9.6. Método para la evaluación del efecto antipirético

Para comprobar que una sustancia presenta actividad antipirética se pueden llevar a cabo diferentes técnicas con el objetivo de evaluar su efecto sobre el modelo biológico, al cual se le induce fiebre por medio de la inoculación de un agente pirógeno, mientras que los agentes pirógenos mayormente empleados son levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) y lipopolisacáridos (LPS) purificados de bacterias como *E.coli*

y *Pseudomonas*. El empleo de la levadura es muy frecuente, presentando solamente algunas variantes. ⁽⁶⁴⁾ (*Véase figura II.6*)



Figura. II.6. Suspensión de levadura de cerveza

2.9.6.1. Inducción de la fiebre experimental

Con la finalidad de verificar la actividad antipirética de los extractos de *Kageneckia lanceolata* (Iloque) fue necesario en primer lugar generar un estado febril en los animales de experimentación, para ello se utilizó levadura de cerveza, y debido a que esta tenía que ser administrada por vía SC se esterilizó a 110°C durante 10 minutos, con esta se procedió a elaborar una suspensión salina, el procedimiento paso a paso fue el siguiente:

- Esterilización de la levadura de cerveza en estufa.
- Posteriormente se midió la temperatura basal (antes de administrar el pirógeno) de los animales de experimentación, introduciendo 1cm del termómetro rectal en los animales de experimentación debidamente lubricado con vaselina y el registro fue por 5 minutos.
- Se preparó una suspensión de levadura de cerveza al 20% en suero fisiológico.

- Administración de la levadura de cerveza por vía subcutánea en la región dorsal a una dosis de 5ml/Kg animal. (*Véase figura II.7*)
- A las 15 y 18 horas se procedió a medir la temperatura rectal, considerándose el tiempo óptimo aquel que presente un incremento de temperatura corporal de 0.5°C a más. Esta medición constituye la temperatura febril.
- Alcanzada la temperatura febril se administró el tratamiento y se procedió a medir la temperatura rectal a 1 hora, 2 horas 3 horas y 4 horas de administrado el tratamiento.



Figura. II.7. Administración subcutánea de levadura de cerveza

- ✓ El cálculo para determinar el efecto antipirético sigue la siguiente ecuación ⁽⁵³⁾.

$$\% \text{ Disminución de la pirexia} = \frac{T^{\circ} \text{ inducida} - C_n}{T^{\circ} \text{ inducida} - T^{\circ} \text{ normal}} \times 100$$

Donde:

- ✓ T° inducida: Temperatura después de la inducción de pirexia.
- ✓ Cn: Temperatura a 1, 2, 3, y 4 hora.
- ✓ T normal: Temperatura normal del cuerpo

2.9.6.2. Análisis de la información

Para el análisis de la información del efecto antipirético se realizó en función de la temperatura febril, esto es, se halló la diferencia entre la temperatura rectal a los distintos tiempos (1, 2, 3 y 4 horas) luego de administrar el tratamiento y la temperatura febril, posteriormente con estas diferencias se determinó el área bajo la curva. ⁽⁴¹⁾

2.9.7. Método para la evaluación del efecto antiinflamatorio

El método de edema plantar en ratas consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina al 2%. Este mucopolisacárido es extraído del alga marina *Chondrus crispus*, y es introducido a nivel de la aponeurosis plantar de la pata de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradiquinina, prostaglandinas, etc.) el producto a ensayar se puede administrar por diferentes vías (intraperitoneal, oral, etc.) ^(41,47)

Para ejecutar esta metodología se debe medir el volumen basal de la pata sana haciendo uso del plestímetro digital, este instrumento permite medir los pequeños cambios del volumen del tejido inflamado (*Véase figura II.8*) ^(41,47)



Fig. II.8. Administración de carragenina en la región subplantar.

2.9.7.1. Inducción del proceso inflamatorio

Con la finalidad de verificar la actividad antiinflamatoria de los diferentes extractos de *Kageneckia lanceolata* (lloque) fue necesario provocar en los animales de experimentación un proceso inflamatorio mediante la

administración de carragenina en la aponeurosis plantar. Previo a ello se procedió a medir el volumen de la pata sana. Este dato se consideró como basal para hallar el porcentaje de la inflamación respecto a las medidas post administración de los tratamientos (1, 2, 4 y 6 horas) el procedimiento seguido fue el siguiente:

- Medición del volumen de la pata sana del animal en pletismómetro digital.
- Administración de los tratamientos por vía oral.
- Media hora después de la administración de los tratamientos se procede a administrar por vía SC 0.2mL de una solución de carragenina al 2% en suero fisiológico a cada rata.
- Se realizó mediciones del volumen de la pata inflamada al cabo de 1, 2, 4 y 6 horas de administrada la carragenina.
- Proceder con el análisis de información. ^(41,47)



Figura. II.9. Medición del volumen inflamatorio mediante pletismómetro

- El cálculo para determinar el efecto antiinflamatorio sigue la siguiente ecuación (48)

$$\% \text{ Antiinflamatorio} = \frac{(C_T - C_0)_{\text{CONTROL}} - (C_T - C_0)_{\text{TRATADO}}}{(C_T - C_0)_{\text{CONTROL}}} \times 100$$

Donde:

- ✓ C_T : Volumen de la pata en el tiempo T.
- ✓ C_0 : Volumen de la pata antes de la inyección de carragenina

2.9.7.2. Análisis de la información

Para el análisis de la información del efecto antiinflamatorio se consideró la medición basal representada por el volumen de la pata sana medida mediante pletismómetro digital, además de las mediciones realizadas de la pata inflamada al cabo de 1, 2, 4 y 6 horas de administrada la carragenina, con estos valores se halló el porcentaje de la inflamación considerando el 100% para la medición basal. Los porcentajes hallados corresponden al porcentaje antiinflamatorio los que permitieron hallar el área bajo la curva.⁽⁴¹⁾

2.9.8. Cálculo del área bajo la curva

Los que permitieron hallar el área bajo la curva de la respuesta tanto antipirética como antiinflamatoria desde el tiempo 0 hasta el último valor o tiempo final, mediante el método de los trapecios.

Cada punto experimental forma con la horizontal un área del trapecio. Siendo la fórmula del trapecio rectángulo la siguiente:

$$A = \left(\frac{(B + b)}{2} \times h \right)$$

Excepto la primera área que corresponde a un triángulo, la suma de todas las áreas (incluida del triángulo) nos da una respuesta global de la respuesta inflamatoria o antipirética según sea el caso, de lo contrario tendría que realizarse varios análisis por cada tiempo experimental lo que congestiona el estudio en tanto cuadros y comparaciones, además de ello impide el análisis total o idea de conjunto, más aun que la respuesta farmacológica – y fisiológica – es una sola y no se manifiesta con soluciones de continuidad.

2.10. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para el análisis de las áreas de respuesta farmacológica se utilizaron el promedio, además del ANOVA y el Test de Tukey, estos últimos estadígrafos con la intención de comparar los distintos grupos experimentales, y determinar las similitudes o diferencias estadísticas y según ello concluir al grupo de mayor eficacia.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS HOJAS DE *Kageneckia Lanceolata* (Lloque)

Una vez recolectadas e identificados taxonómicamente las hojas de *Kageneckia Lanceolata* (Lloque) se llevaron las muestras al laboratorio de farmacognosia (H-103) donde se hizo la preparación y acondicionamiento de nuestra muestra vegetal, se procedió a seleccionar las hojas que se encontraban en buen estado, siendo descartadas las que se encontraban marchitas, luego las hojas colocamos encima de un papel kraft para llevarlos a la estufa previamente calentada durante 3 minutos a una temperatura de 90°C. para estabilizar las hojas con la finalidad de inactivar las enzimas que pudiera acelerar la degradación, pasado esto se procedió a la desecación de las hojas a una temperatura de 40°C. durante 3 horas con 30 minutos por cada bandeja a desecar, finalmente trituramos con uso de un mortero hasta obtener un polvo con grado moderado, ya obtenida la muestra triturada se procedió a pesar en la balanza analítica el material vegetal que fue reducido de tamaño y se procedió a guardar en frascos de vidrio color ámbar para proteger de la luz.

3.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS de *Kageneckia lanceolata* (Lloque)

La obtención de los extractos de *kageneckia lanceolata* (lloque) fue mediante el método continuo de Soxhlet, se procedió a pesar 10.0g de las hojas de *kageneckia lanceolata* (lloque) se procedió a armar el equipo de Soxhlet y

medimos 150mL de los 3 disolventes (hexano, acetato de etilo y etanol), donde se procedió a calentar cada uno de los disolventes, donde observamos el extracto con hexano presenta una coloración verde amarilla, el extracto con acetato de etilo con una coloración de verde oscuro y el extracto con etanol color verde oscuro intenso, los vapores del disolvente se condensan y caen gota a gota, sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo así los analitos solubles.

Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se complete la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente.

3.3. RENDIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES DE HOJAS *Kageneckia lanceolata* (lloque)

Una vez llevados a un balón para su evaporación mediante el equipo rotavapor seguidamente se terminó su concentración en Baño María hasta su evaporación total. El aspecto final de los extractos (hexano, acetato de etilo y etanol) constituyeron extractos blandos. (Véase figura. III.1.)

Según los resultados del *cuadro 3.1* muestra que el extracto realizado con etanol presenta 26.65% presentando el mayor porcentaje de rendimiento y se ubica por encima del acetato de etilo que presenta 17.01% y realizado con hexano un 14.20% de rendimiento. (Véase figura III.2)

Posteriormente los extractos blandos se utilizaron para la evaluación piloto (hexano, acetato de etilo y etanol) y para la evaluación experimental parte final (extracto que tuvo mejor efecto en la etapa preliminar)



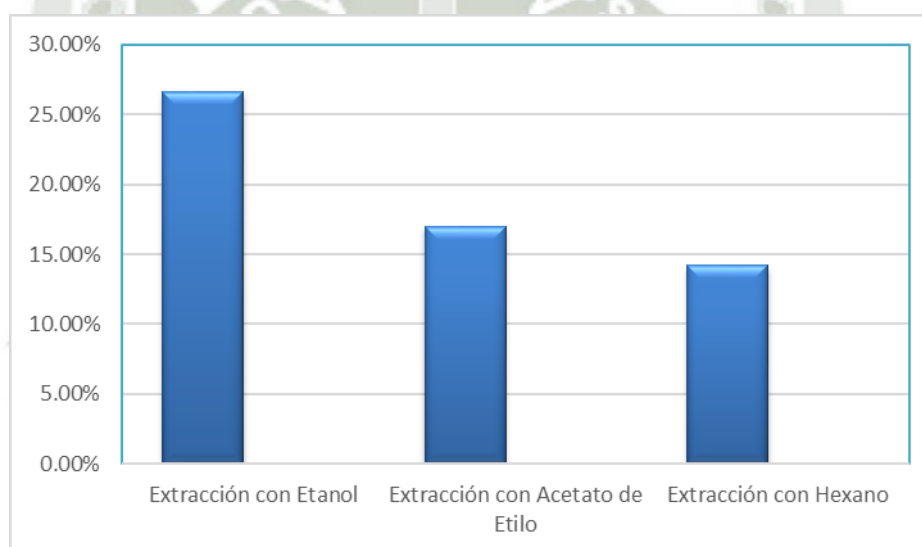
Figura. III.1. Extractos de lloque: hexano, acetato de etilo y etanol

CUADRO N° 3.1

**PORCENTAJE DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS BLANDOS DE
KAGENECKIA LANCEOLATA (LLOQUE)**

Tipo de disolvente	Droga (g)	Extracto (g)	Rendimiento (\bar{x})
Extracción con Hexano	10.00	1.42	14.20%
Extracción con Acetato de Etilo	10.00	1.70	17.01%
Extracción con Etanol	10.00	2.66	26.65%

Fuente: Elaboración propia.

**Figura III.2:** Porcentaje de los diferentes extractos blandos de *kageneckia lanceolata* (lloque)**3.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR**

Mediante el método de cromatografía en capa fina para el extracto etanólico, realizada a través de distintos sistemas de disolventes muestra que hay presencia de sustancias terpénicas, flavónica y taninos, siendo negativo la reacción para alcaloides, los resultados según las figuras.

Para el cromatofolio para terpenos se trabajó con acetato de etilo y tolueno como fase móvil, se reveló tras la aplicación del reactivo de Liebermann Burchard para lo cual se observaron manchas de color rosa correspondientes para saponinas, para triterpenos y esteroides verdes y azuladas para esteroides detectados bajo la luz UV. (Véase *figura.III.3*)

Por otra parte para la identificación de sustancias de tipo flavonoide, en donde se utilizó como fase móvil un sistema de disolvente compuesto por acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua teniendo como revelador el reactivo de cloruro de aluminio, muestra bajo la luz UV manchas fluorescentes de color amarillas y rosas, características para este tipo de compuestos. (Véase *figura III.4*)

En cuanto a los compuestos para la identificación de taninos, en donde se utilizó una mezcla de metanol y agua como fase disolvente, utilizando como revelador cloruro férrico la presencia de este tipo de compuestos debido a una mancha marrón verdoso que también es característico para este tipo de compuesto, los taninos por su composición y sus características físico químicas son muy solubles en agua. (Véase *figura.III.5*) Para todas las figuras también ilustran sus correspondientes valores de factor de desplazamiento o Rf.

La presencia de alcaloides se detecta por la formación de un precipitado naranja rojizo cuando se le adiciona este reactivo a una solución ácida de alcaloides. No se evidencia la presencia de alcaloides (Véase *figura III.6.*)

El análisis fitoquímico realizado por nosotros es semejante con el trabajo realizado por Valdivia Ugarte, Jaime Enrique “Evaluación de la actividad antipirética de los extractos secos de las hojas de *perezia multiflora* (escorzonera) en animales de experimentación”, ya que usa el mismo método de extracción, tipo de muestra hojas, con disolvente etanol y el mismo objetivo antipirético con la diferencia de tipo de planta.

Como es conocido muchos metabolitos secundarios como fenoles simples presentes en el sauce (*Salix alba*) y sustancias de naturaleza terpénica presentes en la *Matricaria recutita* en estudios han demostrado ser inhibidores de la vía de la ciclooxigenasa. Por otra parte se informa que el romero (*Rosmarinus officinalis*) muestra efecto antipirético en el extracto blando alcohólico se han

detectado la presencia de saponinas que forman parte del complejo activo. Un estudio más cercano – local – que evalúa la actividad antipirética de extractos blandos de hojas de *Perezia multiflora* (escorzonera) refiere también efecto antipirético de dicha planta, en este estudio se detectaron también la presencia de sustancias terpénicas, saponinas y también alcaloides.

Todos estos estudios coinciden con nuestro estudio en donde se detectaron sustancias terpénicas, saponinas y esteroides, estas por su naturaleza es probable que accedan al SNC del animal y presenten un mecanismo de inhibición de la COX al igual que los ejemplos citados.

Diversas investigaciones señalan que los flavonoides y los taninos tienen propiedades antipiréticas y antiinflamatorias, lo cual coincide con los resultados obtenidos en la presente investigación, tal vez sean estos los responsables del efecto observado.



Figura. III.3. Identificación de terpenos.

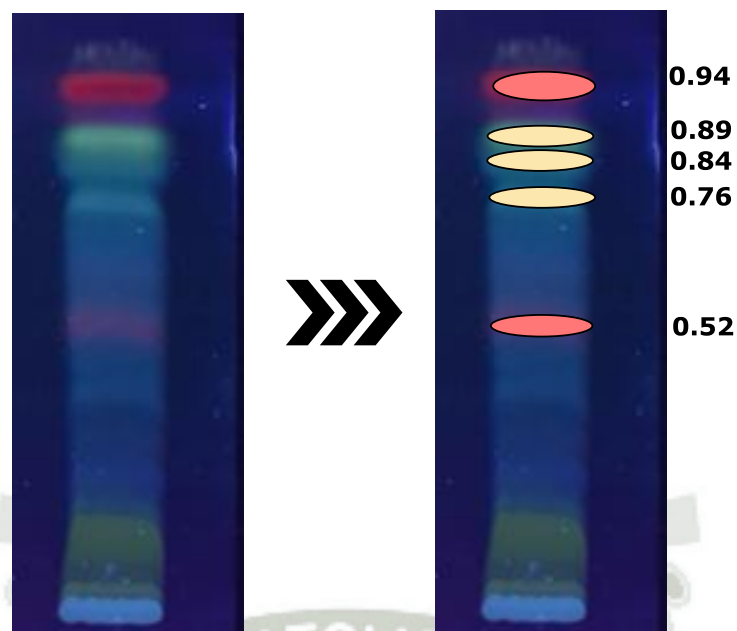


Figura. III.4. Identificación de flavonoides



Figura. III.5. Identificación de taninos.



Figura. III.6. Identificación de Alcaloides

3.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPIRÉTICO

3.5.1. Evaluación piloto

Se realizó una prueba piloto con la finalidad de determinar cuál de los extractos según los disolventes (hexano, acetato de etilo, y etanol) presente mayor efecto farmacológico inicial. Con este fin se trabajó con 12 animales de experimentación divididos en cuatro grupos de tres ratas cada uno a una dosis de 800mg/Kg, se eligió esta dosis inicial debido a que se utiliza un número limitado de animales, lo cual el extracto que presentó mayor efecto farmacológico según nuestros resultados estadísticos de cada grupo fue el extracto etanólico y por lo cual se trabajó con este extracto la parte experimental final.

CUADRO N° 3.2

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO PILOTO CONTROL DIFERENCIA DE
TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.05	0.15	0.25	0.35
2	0.05	0.20	0.35	0.50
3	0.05	0.15	0.25	0.35
Promedio	0.05	0.17	0.28	0.40

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.2 muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas), la menor área y por lo tanto la menor diferencia se observa a la hora y la mayor área a las 4 horas, por lo tanto la diferencia de temperaturas es a las 2 y 3 horas.

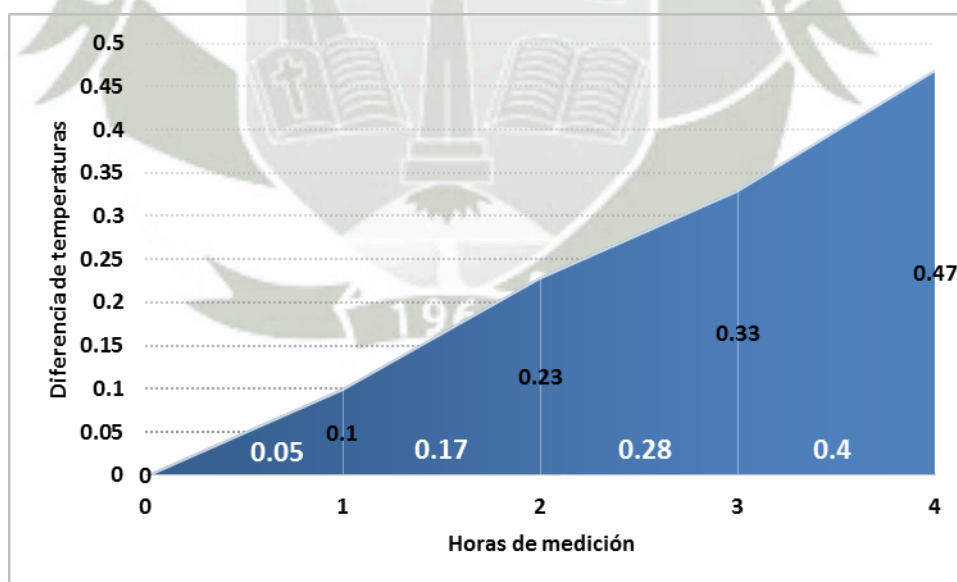


Figura III.7: Área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo piloto control en los distintos tiempos.

CUADRO N° 3.3

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO ACETATO ETILO 800 MG/KG
DIFERENCIA DE TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.05	0.15	0.35	0.60
2	0.05	0.20	0.35	0.45
3	0.05	0.15	0.30	0.45
Promedio	0.05	0.17	0.33	0.50

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.3 muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo tratado con 800 mg/kg de extracto seco obtenido mediante extracción con acetato de etilo, la menor área y por lo tanto la menor diferencia se observa a la hora, y la mayor área a las 4 horas.

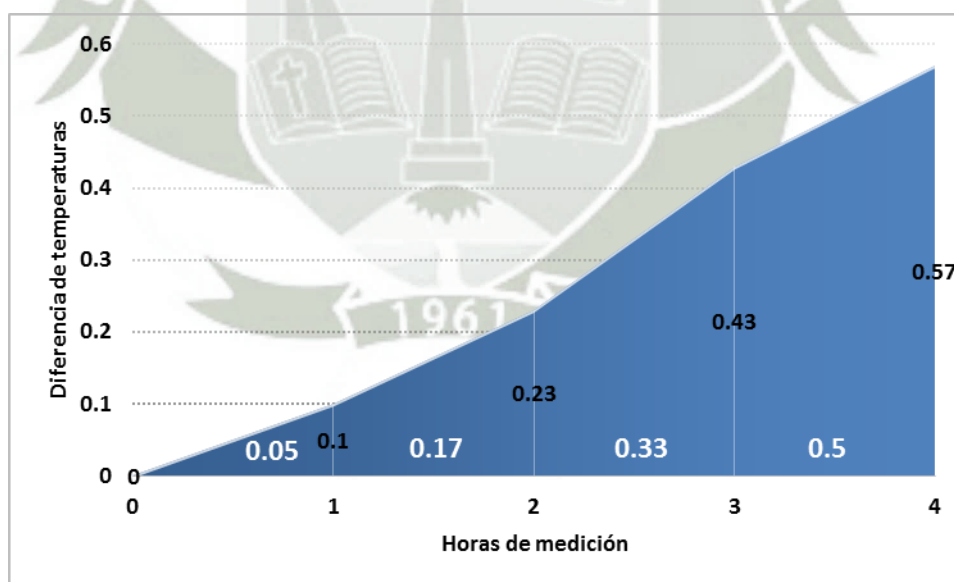


Figura III.8: Área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo acetato de etilo 800 mg/kg en los distintos tiempos.

CUADRO N° 3.4

ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO HEXANO 800 MG/KG DIFERENCIA DE TEMPERATURAS

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.05	0.15	0.40	0.80
2	0.05	0.20	0.35	0.50
3	0.05	0.15	0.30	0.45
Promedio	0.05	0.17	0.35	0.58

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.4 muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo tratado con 800 mg/kg de extracto seco obtenido mediante extracción con hexano, la menor área y por lo tanto la menor diferencia se observa a la hora, y la mayor área a las 4 horas.

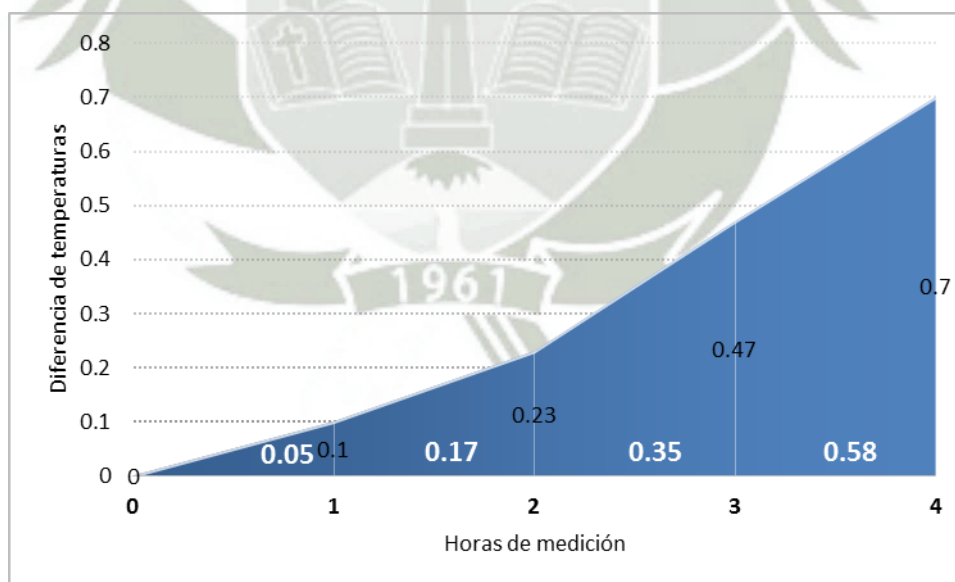


Figura III.9: Área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo hexano 800 mg/kg en los distintos tiempos

CUADRO N° 3.5

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO ALCOHOL ETÍLICO 800 MG/KG
DIFERENCIA DE TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.20	0.55	0.80	1.00
2	0.20	0.55	0.85	1.15
3	0.05	0.25	0.45	0.55
Promedio	0.15	0.45	0.70	0.90

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.5 muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo tratado con 800 mg/kg de extracto seco obtenido mediante extracción con alcohol etílico, la menor área y por lo tanto la menor diferencia también se observa a la hora, y la mayor área a las 4 horas. Se observa también que el incremento del área bajo la curva a medida que incrementa el tiempo.

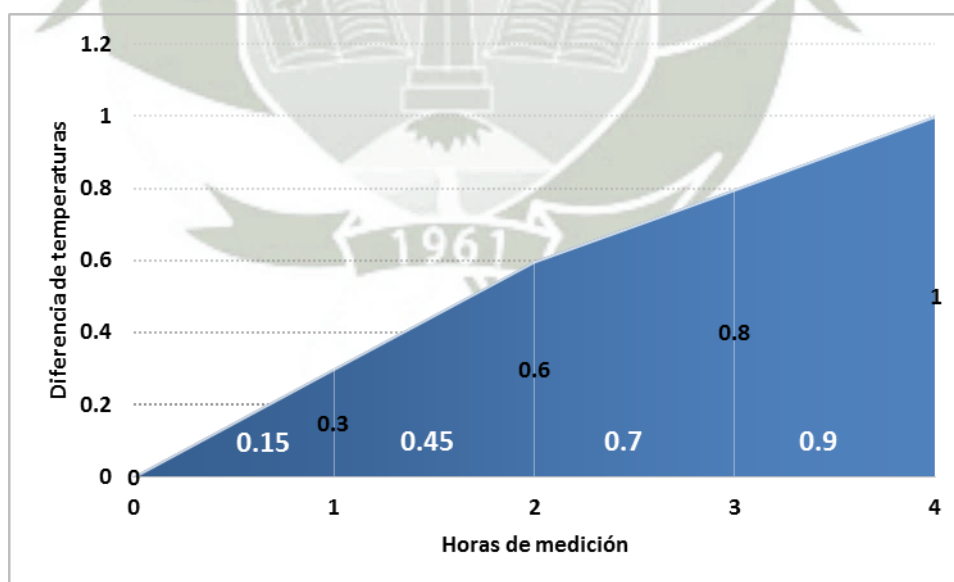


Figura III.10: Área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo alcohol etílico 800 mg/kg en los distintos tiempos.

CUADRO N° 3.6

ANOVA DEL ÁREA BAJO LA CURVA PRUEBA PILOTO Y LA DIFERENCIA DE TEMPERATURAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3.157	3	1.052	5.930	.020
Dentro de grupos	1.420	8	.177		
Total	4.577	11			

Fuente: Elaboración propia.

El análisis de varianza permite ver las diferencias o semejanzas entre los distintos grupos experimentales partiendo de una hipótesis nula que asume que los grupos en cuanto sus medias y varianzas son iguales siempre y cuando superen el valor mínimo de significancia que para efectos del presente estudio es de 0.05. El cuadro 3.6 que contiene los resultados para este análisis muestra una Sig. = 0.020, al ser un valor menor al permitido entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa de investigación que asume que los grupos son diferentes.

CUADRO N° 3.7

TEST DE TUKEY DEL ÁREA BAJO LA CURVA PRUEBA PILOTO Y LA DIFERENCIA DE TEMPERATURAS

Piloto	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Control	3	.900	
Acetato etilo 800 mg/kg	3	1.050	
Hexano 800 mg/kg	3	1.150	1.150
Alcohol etílico 800 mg/kg	3		2.200
Sig.		.884	.062

Fuente: Elaboración propia.

El test de Tukey realiza una comparación más específica entre los grupos de tratamiento, al compararlos uno respecto a los demás estableciendo varias posibles comparaciones entre los distintos grupos, con la finalidad de ver semejanzas y diferencias. El cuadro 3.7 contiene el resumen de estas comparaciones y establece grupos o conjuntos similares, se observa que en cuanto al grupo tratado con extracto con acetato de etilo este se parece al grupo control, por lo que en cuanto a este grupo no tendría mayor eficacia. Por otra parte el grupo tratado con extracto con Hexano a una dosis de 800mg/kg no se diferencia claramente del grupo control, en cambio el grupo tratado con extracto con alcohol etílico muestra una diferencia clara respecto del control. Por lo que es este el extracto considerado para realizar la prueba final.

3.5.2. Evaluación final

La evaluación final se realizó en presencia del grupo control se incluyó también un grupo farmacológico que consistió en la administración de ácido acetilsalicílico, por vía oral, con la finalidad de poder verificar si existe alguna eficacia farmacológica en parangón a un fármaco de probada actividad antipirética, este fármaco se administró en una dosis de 100 mg/kg, las dosis correspondientes para cada animal son las siguientes:

Dosis del Ácido Acetilsalicílico.

Animal	Peso (g)	mg de AAS por animal	ml de solución de AAS
1	235	23.5	2.35
2	214	21.4	2.14
3	230	23	2.3
4	218	21.8	2.18
5	224	22.4	2.24

Fuente: Elaboración propia.

Para ello se preparó una solución de 50 ml de agua destilada con 500 mg de ácido acetilsalicílico. Por lo que en cada ml de esta solución se tiene 10 mg de AAS, en base a esta cantidad se establecieron los ml de este fármaco tanto como antiinflamatorio y antipirético.

En esta evaluación también se incluyeron grupos tratados con el extracto de hojas de lloque pero a menor dosis y fue de 200 mg/kg y 400 mg/kg. Estos fueron incluidos para que de forma inicial se aprecie la potencia farmacológica. Finalmente se manifiesta que para esta prueba se utilizaron 5 animales de experimentación por grupo.

CUADRO N° 3.8

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO CONTROL DIFERENCIA DE
TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.05	0.15	0.25	0.35
2	0.05	0.20	0.30	0.35
3	0.05	0.15	0.30	0.45
4	0.05	0.15	0.30	0.45
5	0.05	0.15	0.25	0.45
Promedio	0.05	0.16	0.28	0.41

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

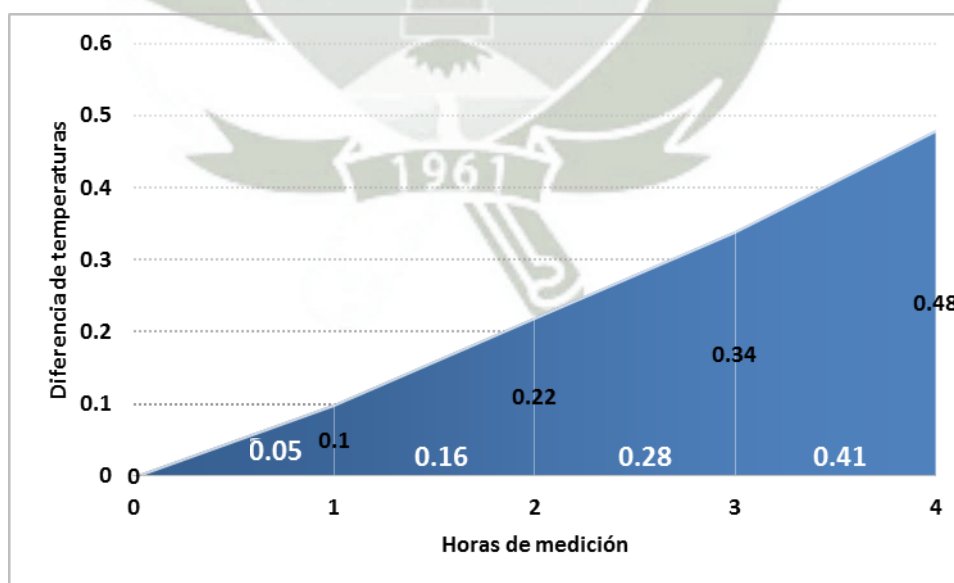


Figura III.11: área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo control final en los distintos tiempos.

El cuadro 3.8 muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo control, se observa que el área bajo la curva de la diferencia de temperatura en los distintos tiempos aumenta paulatinamente siendo la mayor diferencia en cuanto área a las 4 horas.

CUADRO N° 3.9

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO CON EXTRACTO 200 MG/KG
DIFERENCIA DE TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.05	0.15	0.25	0.35
2	0.05	0.05	0.05	0.15
3	0.05	0.15	0.25	0.35
4	0.15	0.35	0.30	0.10
5	0.05	0.15	0.25	0.45
Promedio	0.07	0.17	0.22	0.28

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

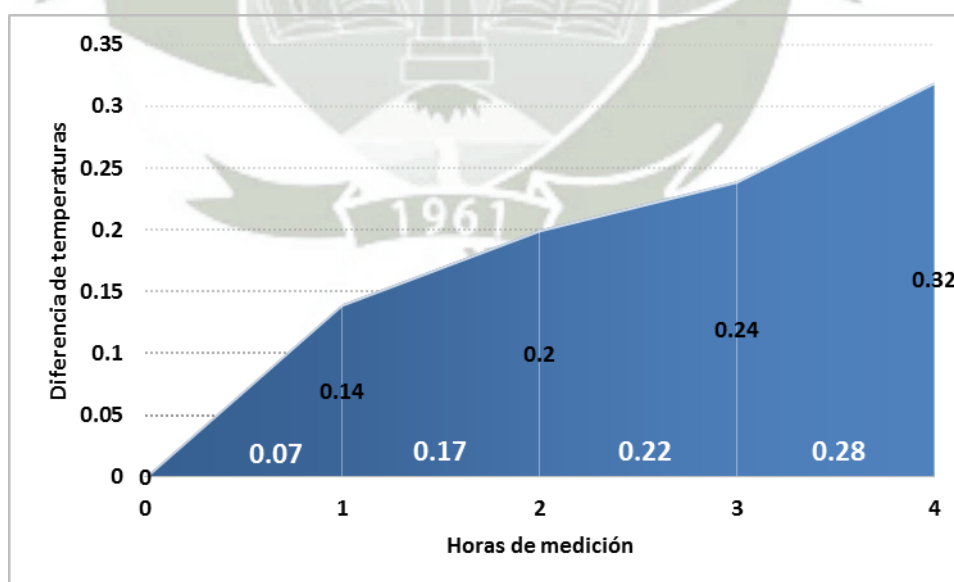


Figura III.12: área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo extracto 200 mg/kg en los distintos tiempos.

El cuadro 3.9 muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo tratado con extracto de hojas de lloque obtenido con alcohol etílico a una dosis de 200mg/kg, se observa que el área bajo la curva de la diferencia de temperatura en los distintos tiempos también se incrementa paulatinamente manifestándose la mayor diferencia en la medición hecha en la hora 4.

CUADRO N° 3.10

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO CON EXTRACTO 400 MG/KG
DIFERENCIA DE TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.05	0.20	0.40	0.60
2	0.05	0.25	0.55	0.80
3	0.05	0.15	0.25	0.40
4	0.05	0.05	0.15	0.35
5	0.05	0.15	0.25	0.35
Promedio	0.05	0.16	0.32	0.50

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

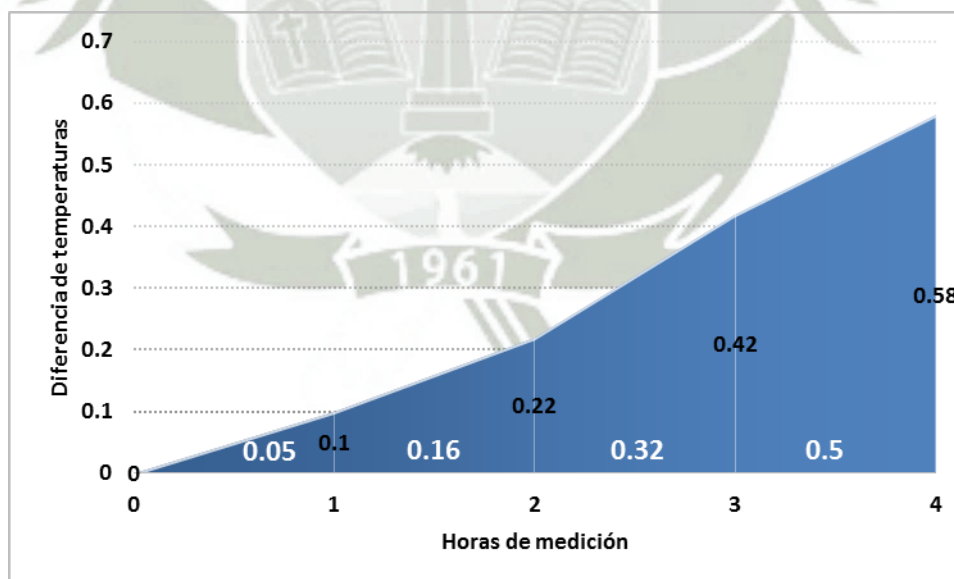


Figura III.13: área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo extracto 400 mg/kg en los distintos tiempos.

El cuadro 3.10 y su gráfico muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo tratado con extracto de hojas de lloque obtenido con alcohol etílico a una dosis de 400 mg/kg, se observa que el área bajo la curva de la diferencia de temperatura en los distintos tiempos aumenta progresivamente alcanzado su valor máximo en la cuarta hora.

CUADRO N° 3.11

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO CON EXTRACTO 800 MG/KG
DIFERENCIA DE TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.25	0.55	0.75	1.00
2	0.10	0.25	0.60	1.05
3	0.15	0.35	0.45	0.95
4	0.20	0.60	0.85	1.15
5	0.15	0.40	0.65	1.05
Promedio	0.17	0.43	0.66	1.04

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

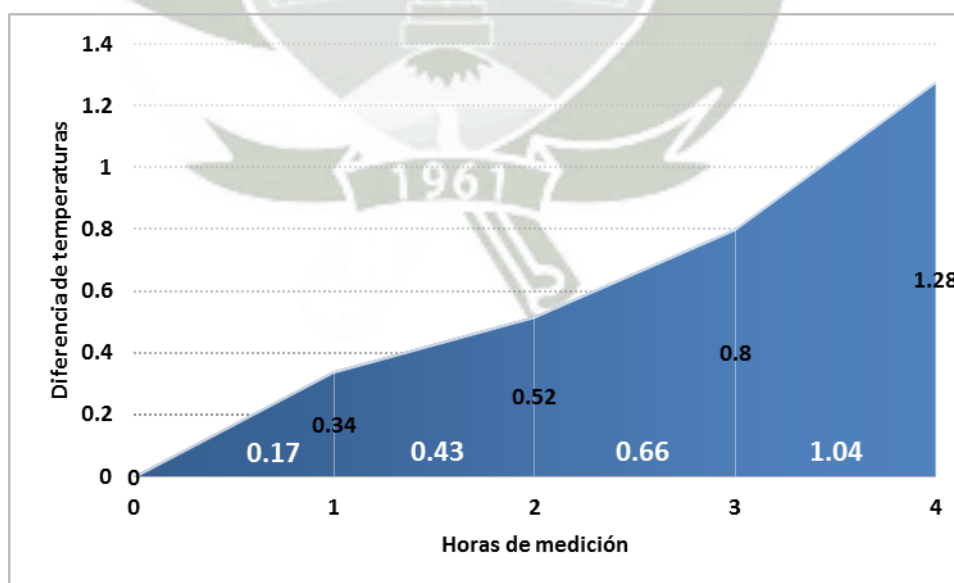


Figura III.14: área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo extracto 800 mg/kg en los distintos tiempos

El cuadro 3.11 y su gráfico muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo tratado con extracto de hojas de lloque obtenido con alcohol etílico a una dosis de 800 mg/kg, se observa que el área bajo la curva de la diferencia de temperatura en los distintos tiempos es similar al cuadro anterior pero a menor dosis, es decir, también aumenta progresivamente alcanzado su valor máximo en la cuarta hora.

CUADRO N° 3.12

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO
DIFERENCIA DE TEMPERATURAS**

Animal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.25	0.60	0.90	1.30
2	0.25	0.75	1.05	1.45
3	0.20	0.50	0.85	1.35
4	0.60	1.45	1.75	1.90
5	0.20	0.50	1.00	1.45
Promedio	0.30	0.76	1.11	1.49

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

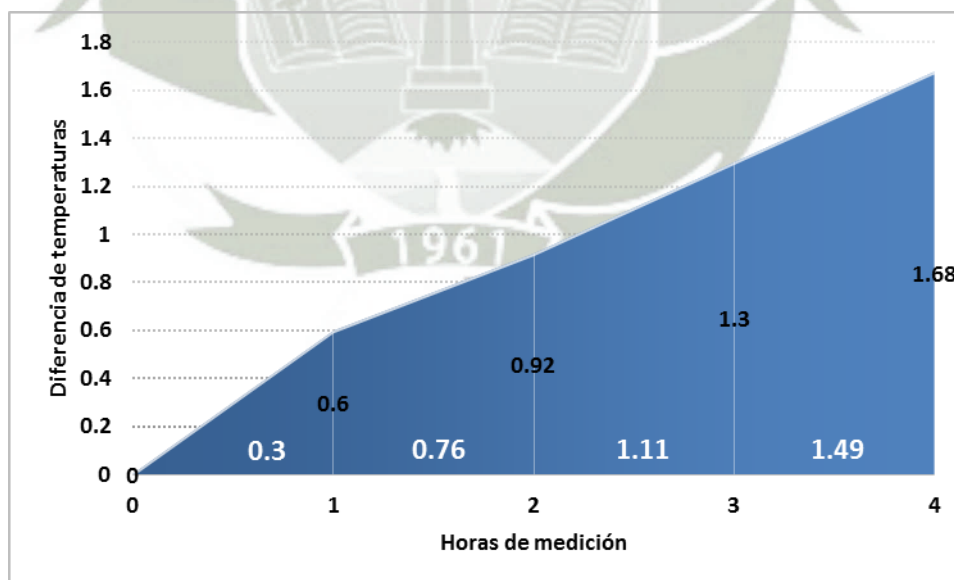


Figura III.15: área bajo la curva diferencia de temperaturas del grupo ácido acetilsalicílico en los distintos tiempos

El cuadro 3.12 y su gráfico muestra el área bajo la curva en los distintos tiempos medidos luego de alcanzada la temperatura febril (18 horas) para el grupo tratado con ácido acetil salicílico, se observa que el área bajo la curva de la diferencia de temperatura en los distintos tiempos es similar a los cuadro anteriores, es decir, también aumenta progresivamente alcanzado su valor máximo en la cuarta hora.

CUADRO N° 3.13

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS: ÁREA BAJO LA CURVA DE LA DIFERENCIA DE TEMPERATURAS

Tipo de tratamiento	N	Media	Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Rango
"Control"	5	.90	.90	.061	.80	.95	.15
Extracto 200 mg/kg	5	.74	.80	.25	.30	.90	.60
Extracto 400 mg/kg	5	1.03	.85	.41	.60	1.65	1.05
Extracto 800 mg/kg	5	2.30	2.25	.37	1.90	2.80	.90
Ácido acetilsalicílico	5	3.66	3.15	1.16	2.90	5.70	2.80
Total	25	1.72	.95	1.25	.30	5.70	5.40

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 3.13 contiene los estadísticos descriptivos para todos los grupos experimentales de la prueba final del efecto antipirético, se observa que el mayor promedio de área bajo la curva de diferencia de temperaturas corresponde al grupo farmacológico seguido del grupo tratado con extracto de hojas de lloque a una dosis de 800mg/Kg, el menor valor corresponde al grupo control.

CUADRO N° 3.14

**ANOVA: ÁREA BAJO LA CURVA DE LA DIFERENCIA DE
TEMPERATURAS**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	31.044	4	7.761	22.392	.000
Dentro de grupos	6.932	20	.347		
Total	37.976	24			

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 3.14 que contiene una Sig. = 0.000, al ser un valor menor al permitido entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa de investigación que asume que los grupos son diferentes. Por lo que resulta necesario una prueba de Tukey.

CUADRO N° 3.15

**TEST DE TUKEY: ÁREA BAJO LA CURVA DE LA DIFERENCIA DE
TEMPERATURAS**

Tipo de tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Extracto 200 mg/kg	5	.740		
"Control"	5	.900		
Extracto 400 mg/kg	5	1.030		
Extracto 800 mg/kg	5		2.300	
Ácido acetilsalicílico	5			3.660
Sig.		.934	1.000	1.000

Fuente: Elaboración propia.

El test de Tukey realiza una comparación más específica entre los grupos de tratamiento finales, al compararlos uno respecto a los demás estableciendo varias posibles comparaciones entre los distintos grupos, con la finalidad de ver semejanzas y diferencias. El cuadro 3.15 contiene el resumen de estas comparaciones y establece grupos o conjuntos similares, se observa que en cuanto a los grupos de interés es decir a los grupos con extracto de lloque como tratamiento, el grupo con 800mg/Kg de extracto

presenta una actividad antipirética cuya eficacia se sitúa entre el grupo con ácido acetilsalicílico y el conjunto formado por el grupo control, el con extracto 200mg/Kg de dosis y el grupo con extracto 400mg/Kg. Respecto a este conjunto diríamos que estas dos últimas dosis no tendrían mayor efecto ya que son similares al grupo control. Por lo que concluimos que el extracto de lloque presenta una actividad moderada como antipirético.

3.6. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

3.6.1. Evaluación piloto

Se realizó una prueba piloto con la finalidad de determinar cuál de los extractos según los disolventes (hexano, acetato de etilo, y etanol) presente mayor efecto farmacológico inicial. Con este fin se trabajó con 12 animales de experimentación divididos en cuatro grupos de tres ratas cada uno a una dosis de 800mg/Kg, se eligió esta dosis inicial debido a la naturaleza de esta evaluación que se utiliza un número limitado de animales, lo cual el extracto que presento mejor efecto farmacológico según nuestros resultados estadísticos de cada grupo fue el extracto etanolico y por lo cual se trabajó con este extracto la parte experimental final.

CUADRO N° 3.16

ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO PILOTO CONTROL PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	60.97	115.25	214.64	202.44
2	55.95	108.93	205.95	184.52
3	63.25	121.69	225.30	202.41
Promedio	60.06	115.29	215.29	196.45

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.16 muestra el área bajo la curva del porcentaje de la inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo control, se nota un incremento de área hasta la cuarta hora que va descendiendo hacia la sexta hora.

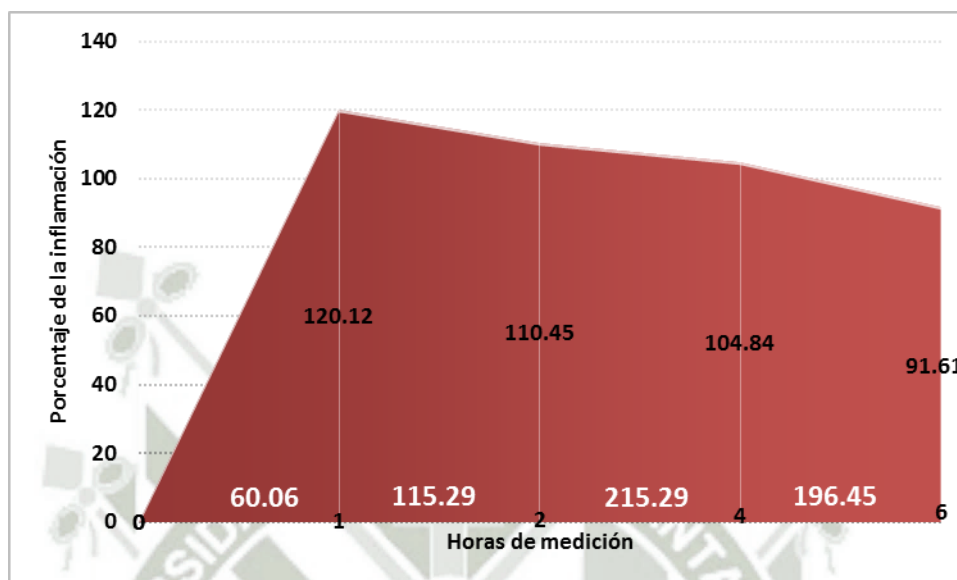


Figura III.16: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo control en los distintos tiempos

CUADRO N° 3.17

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO ACETATO ETILO 800 MG/KG
PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN**

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	61.44	119.30	219.30	196.40
2	55.88	108.20	204.70	187.10
3	66.05	121.60	212.30	196.30
Promedio	61.13	116.40	212.10	193.20

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.17 muestra el área bajo la curva del porcentaje de la inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo que recibió extracto de lloque obtenido con

acetato de tilo, se nota un incremento de área hasta la cuarta hora que va descendiendo hacia la sexta hora, similar al grupo anterior.

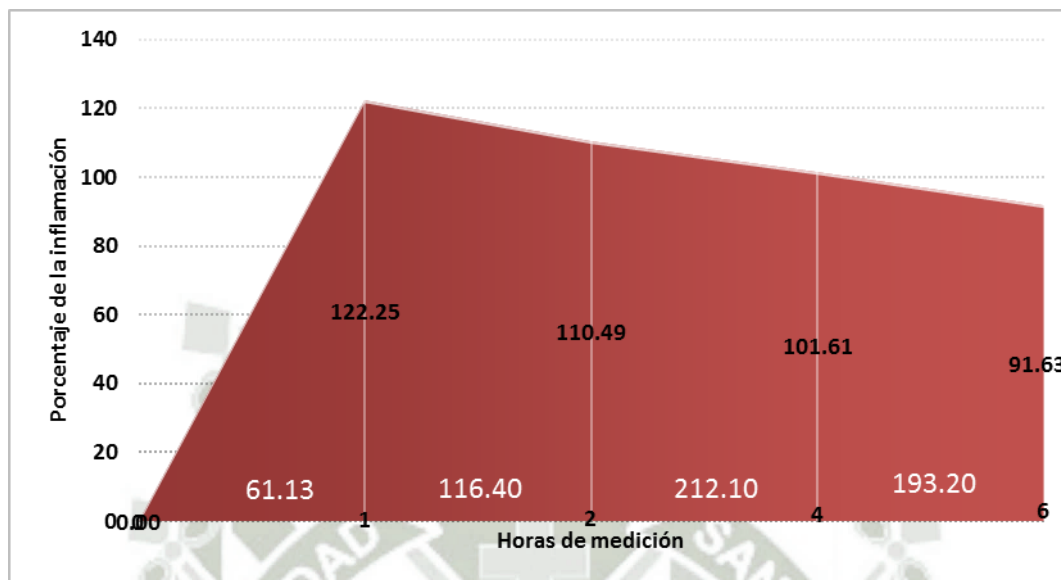


Figura III.17: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo acetato de etilo 800mg/kg en los distintos tiempos.

CUADRO N° 3.18

ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO HEXANO 800 MG/KG PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	60.36	117.10	215.90	195.10
2	59.41	111.80	203.50	182.40
3	57.23	109.60	203.60	185.60
Promedio	59.00	112.80	207.70	187.70

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.18 muestra el área bajo la curva del porcentaje de la inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo que recibió extracto de lloque obtenido con

hexano a una dosis de 800 mg/kg por vía oral, se al igual que los grupos anteriores un incremento de área hasta la cuarta hora que va descendiendo hacia la sexta hora.

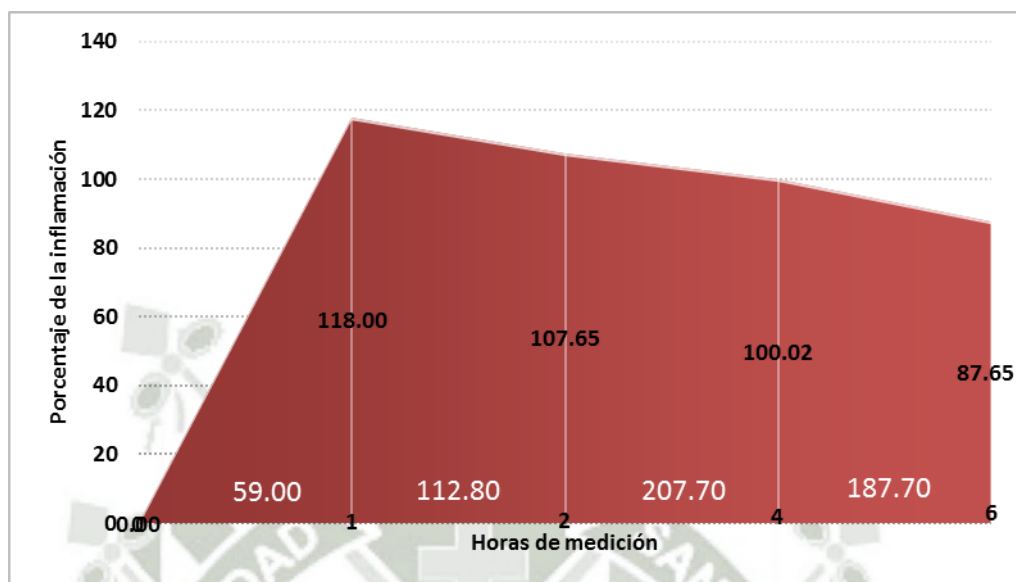


Figura III.18: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo hexano 800mg/kg en los distintos tiempos

CUADRO N° 3.19

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO ALCOHOL ETÍLICO 800 MG/KG
PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN**

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	60.71	114.90	192.90	147.60
2	60.36	117.70	206.10	164.60
3	60.24	113.30	178.30	138.60
Promedio	60.44	115.30	192.40	150.30

Fuente: Anexo 1. Elaboración propia.

El cuadro 3.19 muestra el área bajo la curva del porcentaje de la inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo que recibió extracto de lloque obtenido con

alcohol etílico a una dosis de 800 mg/kg de peso por vía oral, se nota un incremento de área hasta la cuarta hora que va descendiendo hacia la sexta hora.

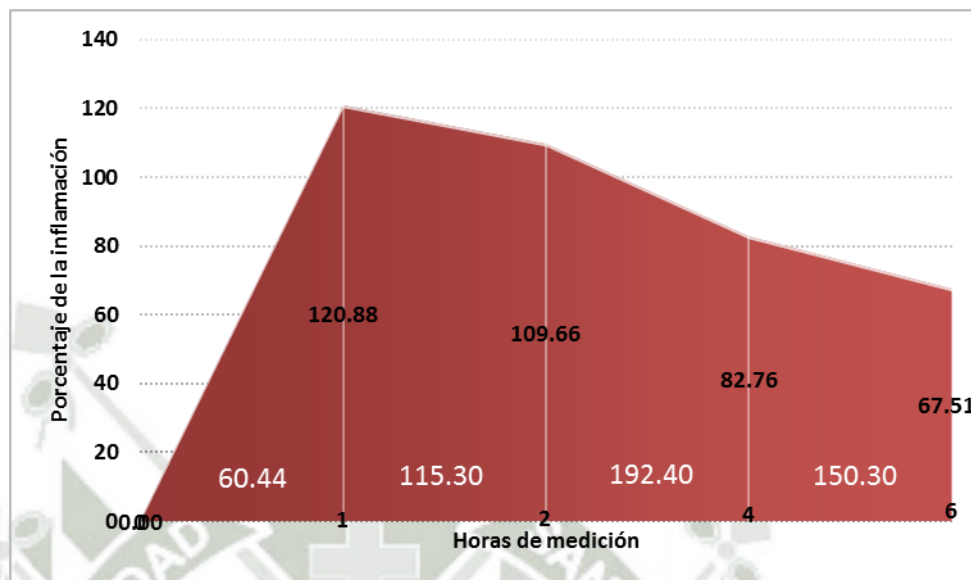


Figura III.19: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo alcohol etílico 800mg/kg en los distintos tiempos.

CUADRO N° 3.20

**ANOVA DEL ÁREA BAJO LA CURVA PRUEBA PILOTO Y EL
PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8935.316	3	2978.439	4.599	.038
Dentro de grupos	5181.316	8	647.664		
Total	14116.631	11			

Fuente: Elaboración propia.

El análisis de varianza permite ver las diferencias o semejanzas entre los distintos grupos experimentales partiendo de una hipótesis nula que asume que los grupos en cuanto sus medias y varianzas son iguales siempre y cuando superen el valor mínimo de significancia que para efectos del presente estudio es de 0.05. El cuadro 3.20 que contiene los resultados para este análisis muestra una Sig. = 0.038, al ser un valor menor

al permitido entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa de investigación que asume que los grupos son diferentes.

CUADRO N° 3.21

TEST DE TUKEY DEL ÁREA BAJO LA CURVA PRUEBA PILOTO Y EL PORCENTAJE DE LA INFLAMACION

Piloto	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Alcohol etílico 800 mg/kg	3	518.400	
Hexano 800 mg/kg	3	567.170	567.170
Acetato etilo 800 mg/kg	3	582.850	582.850
Control	3		587.103
Sig.		.058	.775

Fuente: Elaboración propia.

El test de Tukey realiza una comparación más específica entre los grupos de tratamiento, al compararlos uno respecto a los demás estableciendo varias posibles comparaciones entre los distintos grupos, con la finalidad de ver semejanzas y diferencias. El cuadro 3.21 contiene el resumen de estas comparaciones y establece grupos o conjuntos similares, se nota que los grupos experimentales no tienen una clara diferencia del grupo control, salvo el grupo tratado con extracto de lloque obtenido con alcohol etílico, pese a que comparte similitudes con los otros grupos (hexano y acetato de etilo) que son similares al grupo control, podríamos concluir que es el que presenta mayor eficacia antiinflamatoria ya que se diferencia del control.

3.6.2. Prueba final

La prueba final del efecto antiinflamatorio también necesitó de 05 grupos experimentales: control, extracto de lloque a 200, 400 y 800mg/Kg; y el grupo con ácido acetilsalicílico a una dosis de 100mg/Kg de peso. Se midió el volumen del tejido inflamado sumergiendo la pata en el pletismometro digital, al cabo de 1, 2, 4 y 6 horas. Se halló la diferencia de volumen medido y el estado basal con estas mediciones se halló el área bajo la curva que considera todo estos tiempos y se realizó el análisis de los resultados. El resultado final fue todo los extractos

de lloque a diferentes dosis no presenta actividad antiinflamatoria ya que son similares estadísticamente al control y diferentes al grupo farmacológico.

Existen múltiples investigaciones que relacionan efectos farmacológicos antiinflamatorios y antipiréticos de plantas empleadas en la medicina popular. Se observó que muchas de ellas, presentan actividad antiinflamatoria, porque contienen flavonoides, taninos y otros compuestos polifenólicos que son reconocidos como sustancias antioxidantes. Existe una relación muy estrecha entre la composición fitoquímica de sustancias antioxidantes en las plantas y su acción antiinflamatoria e incluso antipirética.

En investigaciones realizadas se ha demostrado que extractos ricos en polifenoles de té negro, junto con la vitamina E, provocan disminución de los procesos inflamatorios, además de presentar propiedades antioxidantes marcadas.

Existen plantas como la *Bonafousia sp*, *Croton menthodorum*, *Heisteria acuminata*, *Marsdenia condurango* y *Piperlenticellosum* que son usadas en el Ecuador para diferentes enfermedades inflamatorias. Extractos alcohólicos de estas plantas, administrados por vía oral, fueron evaluados utilizando el test del edema de la pata de los ratones inducido por carragenina y se comprobó el efecto antinflamatorio que ha sido reportado por la población. A estos extractos etanólico se les realizó cromatografía de capa fina con la finalidad de analizar sus componentes, en ellos se encontraron cumarinas, taninos, saponinas y flavonoides, sustancias que presentan actividad antioxidante. Son bien conocida las propiedades antiinflamatorias de la sábila (*Aloe vera*), así como sus propiedades cicatrizantes, debido a la presencia en su composición taninos y otras sustancias antioxidantes. (Véase figura III.20)



Figura. III.20. Pata Inflamada y pata Sana

CUADRO N° 3.22

ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO CONTROL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	57.64	112.94	210.59	191.76
2	53.57	105.95	207.14	198.81
3	57.38	113.64	223.86	215.91
4	55.55	110.00	214.45	205.56
5	57.30	114.05	221.35	213.49
Promedio	56.29	111.31	215.48	205.11

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 3.22 y su gráfico muestra el área bajo la curva del porcentaje de inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo control, este porcentaje se halló considerando la prueba basal (pata no inflamada) como referencia, se observa que el área bajo en los distintos tiempos se incrementa paulatinamente hasta lograr un valor máximo a las 4 horas de administrar la carragenina (215%) para descender en la sexta hora (205%).

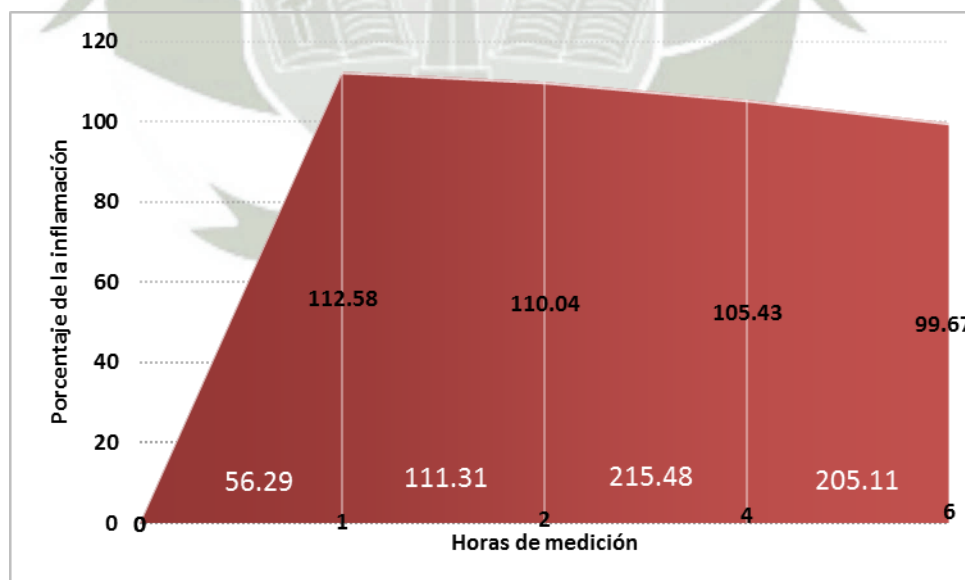


Figura III.21: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo control final en los distintos tiempos.

El cuadro 3.22 y su gráfico muestra el área bajo la curva del porcentaje de inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo control, este porcentaje se halló considerando la prueba basal (pata no inflamada) como referencia, se observa que el área bajo en los distintos tiempos se incrementa paulatinamente hasta lograr un valor máximo a las 4 horas de administrar la carragenina (215%) para descender en la sexta hora (205%)

CUADRO N° 3.23

ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO EXTRACTO 200 MG/KG PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	63.41	122.00	223.20	196.30
2	55.29	107.10	194.10	161.20
3	59.49	113.90	215.20	184.80
4	64.10	123.10	224.40	202.60
5	59.03	116.30	216.90	194.00
Promedio	60.27	116.46	214.74	187.77

Fuente: Anexo 2. Elaboración propia.

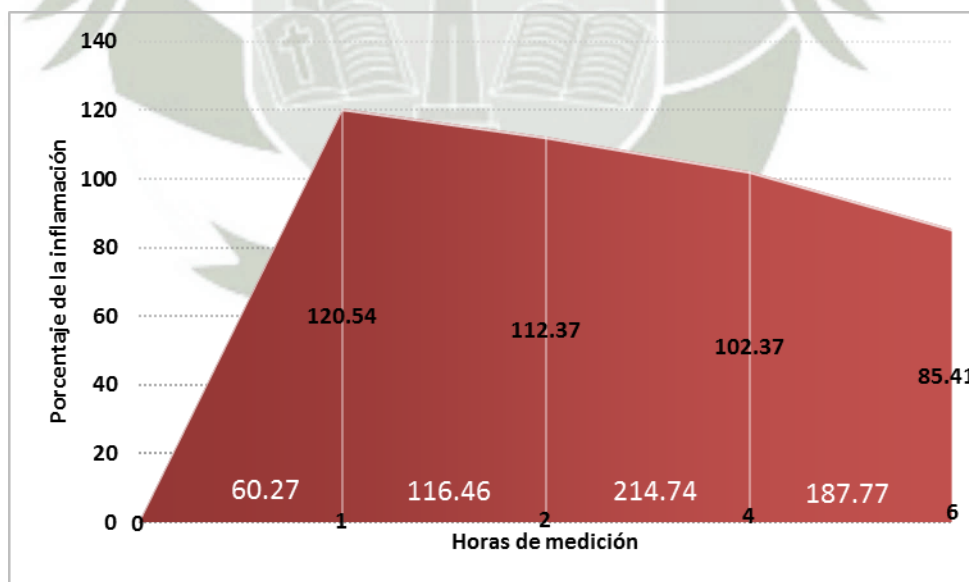


Figura III.22: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo extracto 200 mg/kg final en los distintos tiemposEl cuadro 3.23 y su gráfico muestra el área bajo

la curva del porcentaje de inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo tratado con extracto seco obtenido con alcohol etílico a una dosis de 200 mg/kg, este porcentaje se halló considerando la prueba basal (pata no inflamada) como referencia, también se observa que el área bajo en los distintos tiempos se incrementa paulatinamente hasta lograr un valor máximo a las 4 horas de administrar la carragenina (214%) para descender en la sexta hora (187%).

CUADRO N° 3.24

ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO EXTRACTO 400 MG/KG PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	63.75	123.10	226.30	171.30
2	60.00	112.40	203.50	182.40
3	57.23	106.60	188.00	163.90
4	64.20	116.10	195.10	161.70
5	57.64	107.60	190.60	172.90
Promedio	60.57	113.16	200.68	170.43

Fuente: Anexo 2. Elaboración propia

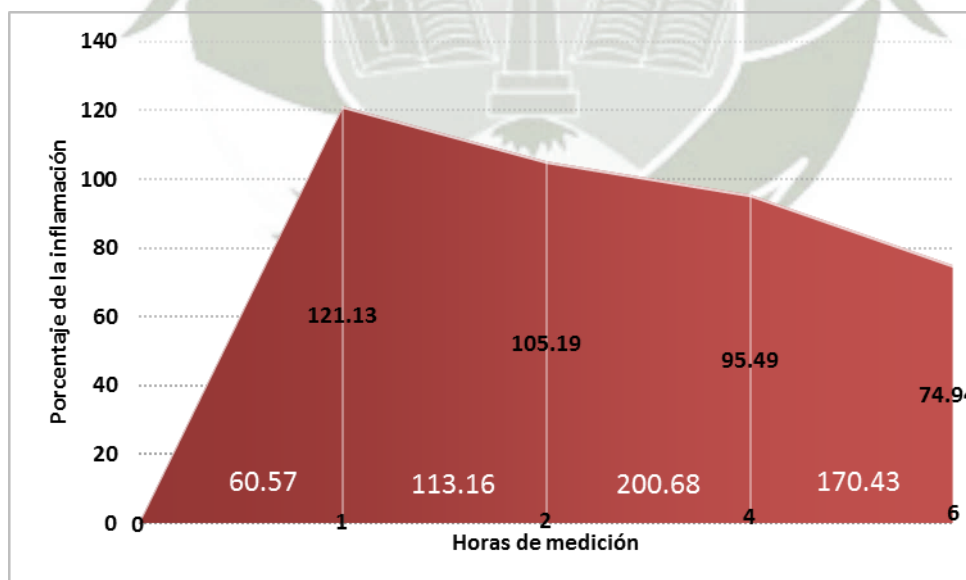


Figura III.23: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo extracto 400 mg/kg final en los distintos tiempos

El cuadro 3.24 y su gráfico muestra el área bajo la curva del porcentaje de inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo tratado con extracto seco obtenido con alcohol etílico a una dosis de 400 mg/kg, este porcentaje se halló considerando la prueba basal (pata no inflamada) como referencia, al igual que el análisis de los grupos anteriores se observa que el área bajo en los distintos tiempos se incrementa paulatinamente hasta lograr un valor máximo a las 4 horas de administrar la carragenina (200%) para descender en la sexta hora (170%).

CUADRO N° 3.25

ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO EXTRACTO 800 MG/KG PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	60.12	108.90	186.90	152.40
2	57.14	111.30	209.50	170.20
3	62.34	121.60	222.20	177.80
4	62.05	113.90	191.60	167.50
5	56.39	106.40	189.50	164.00
Promedio	59.61	112.42	199.95	166.35

Fuente: Anexo 2. Elaboración propia.

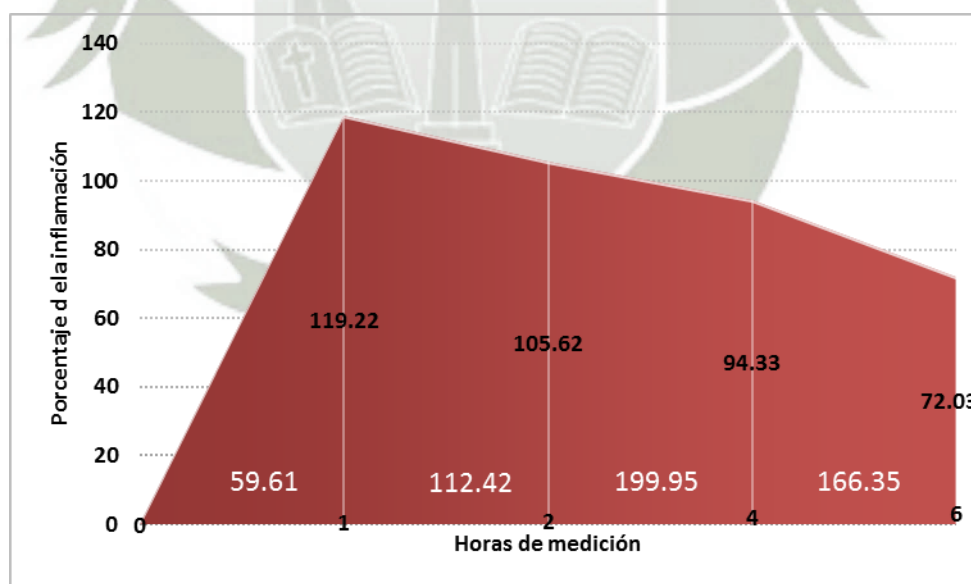


Figura III.24: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo extracto 800 mg/kg final en los distintos tiempos

El cuadro 3.25 y su gráfico muestra el área bajo la curva del porcentaje de inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo tratado con extracto seco obtenido con alcohol etílico a una dosis de 800 mg/kg, este porcentaje se halló considerando la prueba basal (pata no inflamada) como referencia, al igual que el análisis de los grupos anteriores se observa que el área bajo en los distintos tiempos se incrementa paulatinamente hasta lograr un valor máximo a las 4 horas de administrar la carragenina (199%) para descender en la sexta hora (166%).

CUADRO N° 3.26

**ÁREA BAJO LA CURVA: GRUPO EXTRACTO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO
PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN**

Animal	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
1	57.40	103.70	156.80	87.66
2	57.83	101.20	149.40	65.06
3	60.62	108.80	161.30	90.00
4	45.88	89.41	161.20	90.59
5	50.59	99.41	153.60	86.90
Promedio	54.47	100.49	156.44	84.04

Fuente: Anexo 2. Elaboración propia.

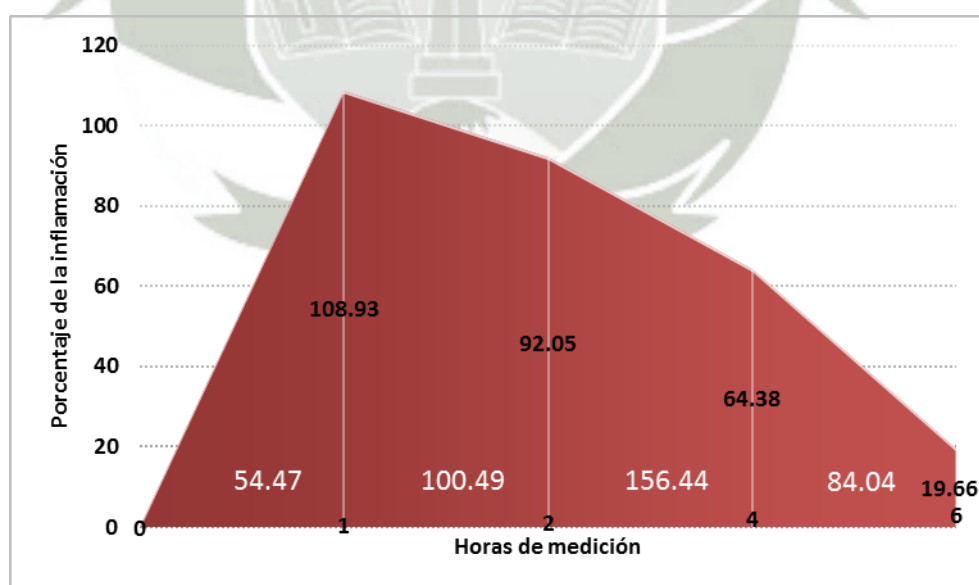


Figura III.25: área bajo la curva del porcentaje de la inflamación del grupo ácido acetilsalicílico en los distintos tiempos

El cuadro 3.26 y su gráfico muestra el área bajo la curva del porcentaje de inflamación en los distintos tiempos medidos para el grupo tratado con ácido acetilsalicílico, al igual que el análisis de los grupos anteriores se observa que el área bajo en los distintos tiempos se incrementa paulatinamente hasta lograr un valor máximo a las 4 horas de administrar la carragenina (156%) para descender en la sexta hora (84%). Sin embargo se nota que estos valores son inferiores respecto a los valores antes vistos.

CUADRO N° 3.27
ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS: AREA BAJO LA CURVA DEL
PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN

Tipo de tratamiento	N	Media	Mediana	Desviación estándar	Mín.	Máx.	Rango
"Control"	5	588.19	585.57	19.93	565.47	610.79	45.32
Extracto 200 mg/kg	5	579.24	586.15	37.90	517.66	614.11	96.45
Extracto 400 mg/kg	5	544.83	537.04	26.97	515.68	584.38	68.70
Extracto 800 mg/kg	5	538.34	534.94	29.89	508.35	583.94	75.59
Ácido acetilsalicílico	5	395.44	390.47	18.11	373.50	420.63	47.13
Total	25	529.21	548.22	75.32	373.50	614.11	240.62

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 3.27 contiene los estadísticos descriptivos para todos los grupos experimentales de la prueba final del efecto antiinflamatorio, se observa que el mayor promedio de área bajo la curva de porcentaje de la inflamación corresponde al grupo control y la menor media de área bajo la curva corresponden al grupo farmacológico, seguido del grupo seguido del grupo tratado con extracto de hojas de lloque a una dosis de 800 mg/kg.

CUADRO N° 3.28

**ANOVA: AREA BAJO LA CURVA DEL PORCENTAJE DE LA
INFLAMACIÓN**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	121019.498	4	30254.875	39.977	.000
Dentro de grupos	15136.311	20	756.816		
Total	136155.809	24			

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 3.28 que contiene una Sig. = 0.000, al ser un valor menor al permitido entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa de investigación que asume que los grupos son diferentes. Por lo que resulta necesaria una prueba de Tukey.

CUADRO N° 3.29

**TEST DE TUKEY: AREA BAJO LA CURVA DEL PORCENTAJE DE LA
INFLAMACIÓN**

Tipo de tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Ácido acetilsalicílico	5	395.441	
Extracto 800 mg/kg	5		538.344
Extracto 400 mg/kg	5		544.832
Extracto 200 mg/kg	5		579.244
"Control"	5		588.192
Sig.		1.00	.065

Fuente:Elaboración propia.

El test de Tukey realiza una comparación más específica entre los grupos de tratamiento finales, al compararlos uno respecto a los demás estableciendo varias posibles comparaciones entre los distintos grupos, con la finalidad de ver semejanzas y

diferencias. El cuadro 3.29 contiene el resumen de estas comparaciones y establece grupos o conjuntos similares, se observa que en cuanto a los grupos de interés es decir a los grupos con extracto de lloque como tratamiento, todos tienen una similitud estadísticamente significativa a un nivel del 0.05 con el grupo control, y solo el grupo farmacológico es distinto del grupo control. Lo que nos permite concluir que en cuanto al efecto antiinflamatorio el extracto blando de hojas de lloque no presenta efecto antiinflamatorio bajo una prueba preclínica en animales de experimentación a ninguna de las dosis 200, 400 y 800mg/Kg administradas por vía oral.



CONCLUSIONES

Primera

Se desarrolló como método de extracción mediante disolventes en particular con equipo Soxhlet, el que permitió extractos blandos obtenidos con tres disolventes (hexano, acetato de etilo y etanol) cuyos mayor rendimiento fue para el extracto con alcohol etílico con 26.65% de rendimiento.

Segunda

Se identificó los principales metabolitos secundarios mediante cromatografía en capa fina del extracto *Kageneckia lanceolata* (lloque) entre ellos: terpenos, flavonoides, taninos, además se pudo observar la presencia de triterpenos, esteroides y saponinas.

Tercera

Mediante una prueba piloto se determinó que el extracto con mayor eficacia antipirética fue el extracto de hojas de lloque obtenido con etanol, ello al verse diferencias significativas en el ANOVA y test de Tukey con el grupo control a un nivel de significancia de 0.05.

Cuarta

Se comparó el efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de hojas de lloque administrado a tres dosis de 200, 400 y 800mg/Kg con ácido acetilsalicílico todos administrados por vía oral mediante el ANOVA y test de Tukey se concluyó que solo el extracto de hojas de lloque a una dosis de 800mg/kg presenta una actividad antipirética “moderada” ya que se sitúa por debajo del grupo farmacológico, para el efecto antiinflamatorio no hubo eficacia ya que son comparables al grupo control.

SUGERENCIAS

- Se sugiere realizar estudios a fin de evaluar otros órganos de *Kageneckia lanceolata* (Lloque) como la corteza y frutos, a los que la población también atribuye efectos medicinales.
- Evaluar la acción analgésica de *Kageneckia lanceolata* (Lloque) en animales de experimentación.
- Realizar un estudio experimental con la finalidad de determinar la toxicidad aguda y calcular la dosis tóxica o letal de del extracto de hojas de lloque administrado por vía oral en animales de experimentación.
- Realizar estudios que tengan como objetivo determinar o identificar la familia del complejo activo presente en el extracto de hojas de lloque responsable del efecto farmacológico.



BIBLIOGRAFIA

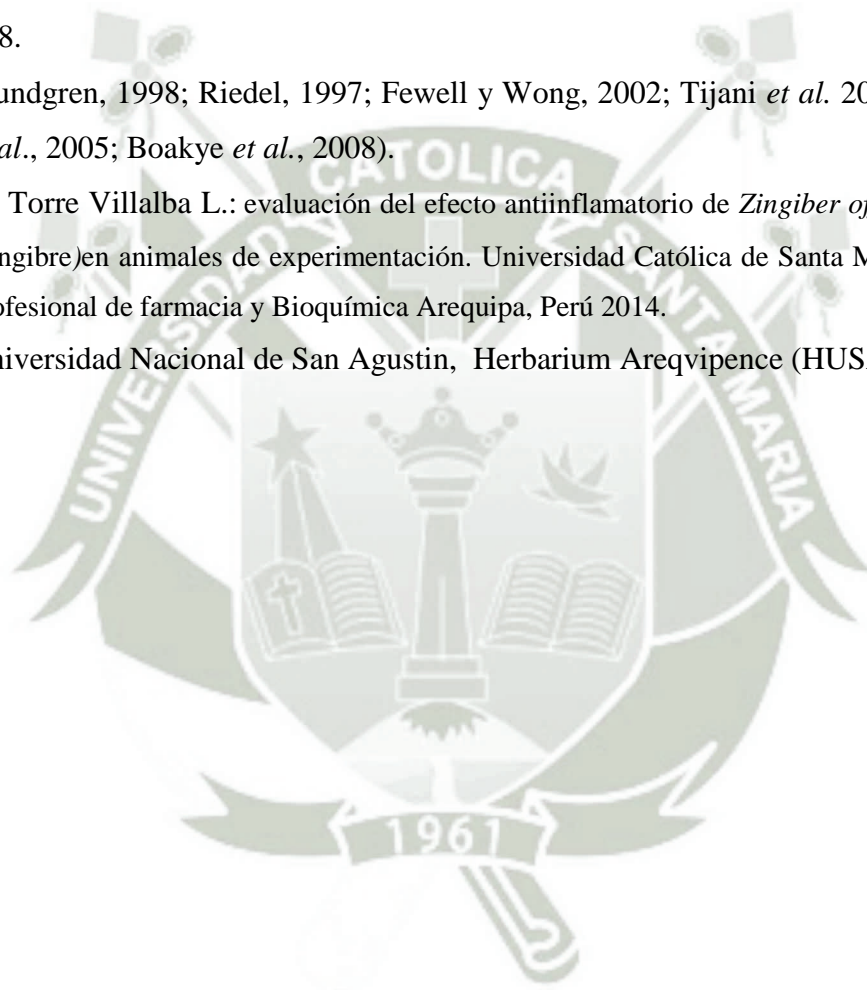
1. Atkins E, Bodel P, editors. Clinical fever: its history, manifestations and pathogenesis. Fed Proc; 1979.
2. Borneo R, León A, Aguirre A, Ribotta P, Cantero J. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Córdoba (Argentina) and their in vitro testing in a model food system. Food Chemistry. 2009;112(3):664-70.
3. Brack Egg Antonio. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición; 1999.
4. Bruneton J.: Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición. Editorial Acribia S.A.;2001.
5. Brunton L, Chabner B. Knollman B. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 12ª Edición. McGraw-Hill Interamericana. México; 2012.
6. Cabanac Mt, Massonnet B. Temperature regulation during fever: change of set point or change of gain? A tentative answer from a behavioural study in man. The Journal of physiology. 1974;238(3):561-8.
7. Cardelús R y otros. Anatomofisiología y Patología Básicas. 1ª Edición, Editorial MacMillan Profesional. México; 2013.
8. Daniel Wayne: Bioestadística, base para el Análisis de las Ciencias de la salud. 4ª Edición. Editorial Limusa S.A. México; 2007.
9. Dinarello C, editor Production of endogenous pyrogen. Fed Proc; 1979.
10. Feldberg W, Gupta K. Pyrogen fever and prostaglandin-like activity in cerebrospinal fluid. The Journal of physiology. 1973;228(1):41.
11. Feldberg W, Saxena P. Further studies on prostaglandin E1 fever in cats. The Journal of physiology. 1971;219(3):739.
12. Flórez J, Armijo JA, Mediavilla Á. Farmacología humana. 6a. edición;2013.
13. Flórez Jesús (Dir.). Farmacología Humana, 6ª Edición. Editorial Elsevier España. Barcelona España; 2014.
14. Flower R, Vane J. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the anti-pyretic activity of paracetamol (4-acetamidophenol). Nature. 1972;240(5381):410-1.

15. Ganong William. Ganong Fisiología Médica. 23ª Edición. Editorial McGraw Hill-Interamericana. México; 2010.
16. García Gutiérrez, Zea Chávez: “Efecto antiinflamatorio tópico de la asociación de *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) y *Calendula officinalis* (caléndula) en el edema inducido experimentalmente en ratas”
17. Guarnizo Franco A, Martínez Yepes P. Experimentos de Química Orgánica. In. Quindío: Elizcom;2013.p.56-72.
18. Guinart Zayas N, López Leyva JL. ¿ Qué sabemos de la fiebre. Revista Cubana de Medicina General Integral. 1997;13(2):159-65.
19. Guyton AC, Hall JEAC, John E, Guyton AC, Guyton AC, Guyton AC, et al. Tratado de fisiología médica: Elsevier; 2011.
20. Guyton Arthur. Tratado de Fisiología Médica. 20ª Edición. Editorial Elsevier. México; 2011.
21. Hajare S, Chandra S, Tandan S, Sarma J, Lal J, Telang A. Analgesic and antipyretic activities of *Dalbergia sissoo* leaves. Indian journal of pharmacology. 2000;32(6):357-60
22. Harvey R. & Champe P. (Editors): Pharmacology. 4ª Edición. Lippincott Edition; 2009.
23. Hernández Sampieri R., Fernández Collado C.: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN, 5ª Edición. Mc GRAW HILL Interamericana Editores;2010.
24. Hellebrekers, L. Manejo del dolor en medicina veterinaria, Editorial Intermédica; 2002.
25. Kasting N, Cooper K, Veale W. Antipyresis following perfusion of brain sites with vasopressin. Cellular and Molecular Life Sciences. 1979;35(2):208-9.
26. Kasting N, Veale W, Cooper K. Development of fever in the newborn lamb. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 1979;236(3):R184-R7.
27. Katzung Bertram G. Farmacología Básica y Clínica. 12ª Edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. México; 2013.
28. Kukllinski C. Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas De Origen Natural, 1ª Edición. Ediciones Omega S.A.; 2000.
29. Lamarque Alicia (Coord.). Fundamentos Teórico Prácticos de Química Orgánica. 1ª Edición. Editorial Brujas; 2008.

30. Legname PR. Árboles indígenas del noroeste argentino (Salta, Jujuy, Tucumán, Santiago del Estero y Catamarca). Opera Lilloana. 1982;34:1-226.
31. Lipton J, Fossler D. Fever produced in the squirrel monkey by intravenous and intracerebral endotoxin. American Journal of Physiology--Legacy Content. 1974;226(5):1022-7.
32. Lipton J, Welch J, Clark W. Changes in body temperature produced by injecting prostaglandin E1, EGTA and bacterial endotoxins into the PO/AH region and the medulla oblongata of the rat. Experientia. 1973;29(7):806-8.
33. Lopez Luengo M. Fitoterapia: Flavonoides. 21^a Edición. Editorial Offarm. 2002
34. Lorenzo MGLLHMSPP, Fernández PL. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18a. edición ed: Editorial Médica Panamericana; 2008.
35. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: Velázquez Farmacología Básica Y Clínica, 18^a Edición. Editorial Médica Panamericana:2008.
36. Makkar H., Siddhuraju and Klaus Becker: Plant Secondary Metabolites, First Edition. Humana Press. 2007.
37. Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. 2^a Edición. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico;2002.
38. Porth CM. Fundamentos de Fisiopatología. 3^a Edición. Editorial Lippincott Williamms & Wilkins. España;2013.
39. Michael Joel y Sircar S.: Fisiología Humana. 1^a Edición, Mexico. Editorial Manual Moderno.2011.
40. Milton A, Wendlandt S. A possible role for prostaglandin E1 as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. The Journal of physiology. 1970;207(2):76P-7P.
41. Moreyra Ramos P., Quiroz Huaranca M.: Evaluación del Efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las partes aereas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en edema plantar inducido en animales de experimentación. Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2013.
42. Mostacero J.; Mejía F.; Gamarra O.: Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. 1^a Edición. Peru. Editorial Normas Legales S.A.C. 2002.
43. Novara L. Rosaceae. Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora. 1993;2(11):1-53.
44. O. MJMFG. Taxonomia de las fanerogamas utiles del Peru: Editora Normas Legales; 2002.

45. otros CRy. Anatomofisiología y Patología Básicas. 1ra. ed: MacMillan Profesional; 2013.
46. Porth CM. Fundamentos de fisiopatología : alteraciones de la salud, conceptos básicos: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
47. Ríos Ochochoque R., Rodríguez Amado J.: evaluación del efecto antiinflamatorio de un gel topico a base de *Gamochaera Americana* (queto queto) en animales de experimentación. Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2013.
48. Rodríguez ML. Fármacos para el tratamiento del dolor. Dr Germán M Vergel Rivera Lic María Josefa Tasé Martínez Dr Ernesto Groning Roque.179.
49. Saleem U, Ahmad B, Ahmad M, Hussain K, BUKHARI NI. Anti-nocieptive, anti-inflammatory and anti-pyretic activies of latex and leaves methanol extract of *Euphorbia helioscopia*. Asian Pacific journal of Tropical Disease. 2015;5(4):322-8
50. Saper CB, Breder CD. The neurologic basis of fever. New England journal of medicine. 1994;330(26):1880-6.
51. Shukla S, Mehta A. In vivo anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of a medicinal plant, *Caesalpinia bonducella* F. Pakistan journal of pharmaceutical sciences. 2015;28(4 (Suppl)):1517-21.
52. Sotta A. Plantas Medicinales y Aromáticas de la Región Arequipa. 1ª Edición ed: CORDAID;2000.
53. Hammer GD,McPhee SJ. Fisiopatologia de la enfermedad: Una introducción a la medicina clínica. 6 a. edición ed: McGraw Hill;2011.
54. Stitt JT. Fever versus hyperthermia. Fed Proc. 1979;38(1):39-43.
55. Szolcsanyi J, Milton A. Handbook of experimental pharmacology. Milton AS, edBerlin: Springer-Verlag. 1982.
56. Sundgren, 1998; Riedel, 1997; Fewell y Wong, 2002; Tijani *et al.* 2008; Tomazetti *et al.*, 2005; Boakye *et al.*, 2008)
57. Tejada CM. Estudio de la biodiversidad Cuenta Del Cotahuasi: La Unión Arequipa Flora Medicinal. 1ª Edición ed: Asociación Especializada para el desarrollo;1998.
58. 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)
59. Valdivia UJ. Actividad antipirética de los extractos secos de *Perezia multiflora* (escorzonera) en animales de experimentación Arequipa: Universidad Católica de Santa María. 2013.

60. Vane J, Botting R. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflammation research*. 1995;44(1):1-10.
61. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*. 1971;231(25):232-5.
62. Ocampo C. R, Rios V. LA, Betancur J. LA, Ocampo S. DM. Curso práctico de química orgánica: enfocado a biología y alimentos. In Escobar Velasquez LF, editor.. Caldas: Editorial Universidad de Caldas; 2008. p. 84-88.
63. 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.
64. (Sundgren, 1998; Riedel, 1997; Fewell y Wong, 2002; Tijani *et al.* 2008; Tomazetti *et al.*, 2005; Boakye *et al.*, 2008).
65. La Torre Villalba L.: evaluación del efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en animales de experimentación. Universidad Católica de Santa María, programa profesional de farmacia y Bioquímica Arequipa, Perú 2014.
66. Universidad Nacional de San Agustín, Herbarium Arequipence (HUSA)



ANEXO 1: EFECTO ANTIPIRÉTICO

SABANA DE DATOS PARA LA EVALUACIÓN PILOTO

Temperaturas rectales grupo control

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	39.30	39.20	39.10	39.00	38.90
2	39.60	39.50	39.30	39.20	39.00
3	39.40	39.30	39.20	39.10	39.00

Diferencia de temperaturas del grupo control

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.10	0.20	0.30	0.40
2	0.10	0.30	0.40	0.60
3	0.10	0.20	0.30	0.40
Promedio	0.10	0.23	0.33	0.47

Temperaturas rectales grupo extracto acetato de etilo 800 mg/Kg

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	39.20	39.10	39.00	38.70	38.50
2	39.00	38.90	38.70	38.60	38.50
3	39.10	39.00	38.90	38.70	38.60

Diferencia de temperaturas del grupo extracto acetato de etilo 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.10	0.20	0.50	0.70
2	0.10	0.30	0.40	0.50
3	0.10	0.20	0.40	0.50
Promedio	0.10	0.23	0.43	0.57

Temperaturas rectales grupo extracto hexano 800 mg/Kg

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	39.30	39.20	39.10	38.70	38.30
2	38.90	38.80	38.60	38.50	38.30
3	39.20	39.10	39.00	38.80	38.70

0

Diferencia de temperaturas del grupo extracto hexano 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.10	0.20	0.60	1.00
2	0.10	0.30	0.40	0.60
3	0.10	0.20	0.40	0.50
Promedio	0.10	0.23	0.47	0.70

Temperaturas rectales grupo extracto alcohol etílico 800 mg/Kg

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	39.00	38.60	38.30	38.10	37.90
2	39.40	39.00	38.70	38.40	38.10
3	39.10	39.00	38.70	38.60	38.50

Diferencia de temperaturas del grupo extracto alcohol etílico 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.40	0.70	0.90	1.10
2	0.40	0.70	1.00	1.30
3	0.10	0.40	0.50	0.60
Promedio	0.30	0.60	0.80	1.00

SABANA DE DATOS PARA LA EVALUACIÓN FINAL

Temperaturas rectales grupo control

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	39.50	39.40	39.30	39.20	39.10
2	39.40	39.30	39.10	39.10	39.00
3	39.10	39.00	38.90	38.70	38.60
4	39.20	39.10	39.00	38.80	38.70
5	39.70	39.60	39.50	39.40	39.10

Diferencia de temperaturas del grupo control

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.10	0.20	0.30	0.40
2	0.10	0.30	0.30	0.40
3	0.10	0.20	0.40	0.50
4	0.10	0.20	0.40	0.50
5	0.10	0.20	0.300	0.60
Promedio	0.10	0.220	0.34	0.48

Temperaturas rectales grupo extracto 200 mg/Kg

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	38.90	38.80	38.70	38.60	38.50
2	38.60	38.70	38.60	38.50	38.40
3	39.30	39.20	39.10	39.00	38.90
4	38.80	39.10	39.20	39.00	38.80
5	39.10	39.00	38.90	38.80	38.50

Diferencia de temperaturas del grupo extracto 200 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.10	0.20	0.30	0.40
2	0.10	0.00	0.10	0.20
3	0.10	0.20	0.30	0.40
4	0.30	0.40	0.20	0.00
5	0.10	0.20	0.30	0.60
Promedio	0.14	0.20	0.240	0.32

Temperaturas rectales grupo extracto 400 mg/Kg

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	39.40	39.30	39.10	38.90	38.70
2	39.20	39.10	38.80	38.50	38.30
3	39.10	39.00	38.90	38.80	38.60
4	39.00	39.10	39.00	38.70	38.60
5	38.70	38.60	38.50	38.40	38.30

Diferencia de temperaturas del grupo extracto 400 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.10	0.30	0.50	0.70
2	0.10	0.40	0.70	0.90
3	0.10	0.20	0.30	0.50
4	0.10	0.00	0.30	0.40
5	0.10	0.20	0.30	0.40
Promedio	0.10	0.22	0.42	0.58

Temperaturas rectales grupo extracto 800 mg/Kg

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	38.90	38.40	38.30	38.00	37.80
2	39.00	38.80	38.70	38.10	37.80
3	39.30	39.00	38.90	38.80	37.90
4	39.50	39.10	38.70	38.60	38.10
5	38.80	38.50	38.30	38.00	37.5

Diferencia de temperaturas del grupo extracto 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.50	0.60	0.90	1.10
2	0.20	0.30	0.90	1.20
3	0.30	0.40	0.50	1.40
4	0.40	0.80	0.90	1.40
5	0.30	0.50	0.80	1.30
Promedio	0.34	0.52	0.80	1.28

Temperaturas rectales grupo ácido acetilsalicílico

Animal	T° Febril	Horas de medición (°C)			
		1	2	3	4
1	39.00	38.50	38.30	37.90	37.50
2	39.10	38.60	38.10	38.00	37.30
3	39.30	38.90	38.70	38.20	37.70
4	39.50	38.30	37.80	37.70	37.50
5	38.90	38.50	38.30	37.50	37.40

Diferencia de temperaturas del grupo ácido acetilsalicílico

Animal	Diferencia según horas de medición (°C)			
	1	2	3	4
1	0.50	0.70	1.10	1.50
2	0.50	1.00	1.10	1.80
3	0.40	0.60	1.10	1.60
4	1.20	1.70	1.80	2.00
5	0.40	0.60	1.40	1.50
Promedio	0.60	0.92	1.30	1.68

ANEXO 2: EFECTO ANTIINFLAMATORIO

SABANA DE DATOS PARA LA EVALUACIÓN PILOTO

Volumen de inflamación del grupo control

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.82	1.82	1.71	1.69	1.61
2	0.84	1.78	1.73	1.68	1.55
3	0.83	1.88	1.80	1.73	1.61

Porcentaje de la inflamación del grupo control

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	121.95	108.54	106.10	96.34
2	111.90	105.95	100.00	84.52
3	126.51	116.87	108.43	93.98
Promedio	120.12	110.45	104.84	91.61

Volumen de inflamación del grupo extracto acetato de etilo 800 mg/Kg

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.83	1.85	1.79	1.69	1.60
2	0.85	1.80	1.74	1.70	1.59
3	0.81	1.88	1.71	1.63	1.58

Porcentaje de la inflamación del extracto acetato de etilo 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	122.89	115.70	103.60	92.77
2	111.76	104.70	100.00	87.06
3	132.10	111.10	101.20	95.06
Promedio	122.25	110.49	101.61	91.63

Volumen de inflamación del grupo extracto hexano 800 mg/Kg

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.82	1.81	1.75	1.66	1.58
2	0.85	1.86	1.74	1.69	1.56
3	0.83	1.78	1.70	1.65	1.55

Porcentaje de la inflamación del grupo extracto hexano 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	120.73	113.40	102.40	92.68
2	118.82	104.70	98.82	83.53
3	114.46	104.80	98.80	86.75
Promedio	118.00	107.65	100.02	87.65

Volumen de inflamación del grupo extracto alcohol etílico 800 mg/Kg

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.84	1.86	1.75	1.55	1.37
2	0.82	1.81	1.76	1.57	1.42
3	0.83	1.83	1.71	1.43	1.38

Porcentaje de la inflamación del grupo extracto alcohol etílico 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	121.43	108.30	84.52	63.10
2	120.73	114.6	91.46	73.17
3	120.48	106.00	72.29	66.27
Promedio	120.88	109.66	82.76	67.51

SABANA DE DATOS PARA LA EVALUACIÓN FINAL

Volumen de la inflamación del grupo control

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.85	1.83	1.79	1.70	1.63
2	0.84	1.74	1.72	1.70	1.65
3	0.88	1.89	1.87	1.86	1.80
4	0.90	1.90	1.88	1.85	1.80
5	0.89	1.91	1.90	1.85	1.83

Porcentaje de la inflamación del grupo control

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	115.29	110.59	100.00	91.76
2	107.14	104.76	102.38	96.43
3	114.77	112.50	111.36	104.55
4	111.11	108.89	105.56	100.00
5	114.61	113.48	107.87	105.62
Promedio	112.58	110.04	105.43	99.67

Volumen de la inflamación del grupo extracto 200 mg/Kg

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.82	1.86	1.78	1.69	1.56
2	0.85	1.79	1.73	1.62	1.45
3	0.79	1.73	1.65	1.63	1.41
4	0.78	1.78	1.70	1.61	1.53
5	0.83	1.81	1.78	1.68	1.59

Porcentaje de la inflamación del grupo extracto 200 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	126.83	117.07	106.10	90.24
2	110.59	103.53	90.59	70.59
3	118.99	108.86	106.33	78.48
4	128.21	117.95	106.41	96.15
5	118.07	114.46	102.41	91.57
Promedio	120.54	112.37	102.37	85.41

Volumen de la inflamación del grupo extracto 400 mg/Kg

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.80	1.82	1.75	1.66	1.31
2	0.85	1.87	1.74	1.69	1.56
3	0.83	1.78	1.65	1.57	1.45
4	0.81	1.85	1.65	1.55	1.38
5	0.85	1.83	1.7	1.62	1.55

Porcentaje de la inflamación del grupo extracto 400 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	127.50	118.75	107.50	63.75
2	120.00	104.71	98.82	83.53
3	114.46	98.80	89.16	74.70
4	128.40	103.70	91.36	70.37
5	115.29	100.00	90.59	82.35
Promedio	121.13	105.19	95.49	74.94

Volumen de la inflamación del grupo extracto 800 mg/Kg

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.84	1.85	1.66	1.59	1.37
2	0.84	1.80	1.75	1.69	1.42
3	0.81	1.82	1.77	1.65	1.41
4	0.83	1.86	1.69	1.56	1.49
5	0.86	1.83	1.72	1.63	1.50

Porcentaje de la inflamación del grupo extracto 800 mg/Kg

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	120.24	97.62	89.29	63.10
2	114.29	108.33	101.19	69.05
3	124.69	118.52	103.70	74.07
4	124.10	103.61	87.95	79.52
5	112.79	100.00	89.53	74.42
Promedio	119.22	105.62	94.33	72.03

Volumen de la inflamación del grupo ácido acetilsalicílico

Animal	Basal	Horas de medición (mL)			
		1	2	4	6
1	0.81	1.74	1.56	1.33	1.00
2	0.83	1.79	1.55	1.35	0.85
3	0.80	1.77	1.57	1.32	1.00
4	0.85	1.63	1.59	1.48	0.99
5	0.84	1.69	1.66	1.31	1.10

Porcentaje de la inflamación del grupo ácido acetilsalicílico

Animal	Diferencia según horas de medición (mL)			
	1	2	4	6
1	114.81	92.59	64.20	23.46
2	115.66	86.75	62.65	2.41
3	121.25	96.25	65.00	25.00
4	91.76	87.06	74.12	16.47
5	101.19	97.62	55.95	30.95
Promedio	108.93	92.05	64.38	19.65



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



“AÑO DE LA INVERSIÓN PARA EL DESARROLLO RURAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA”

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

HACE CONSTAR:

Que la muestra de la planta fresca presentada por las Bachilleres Ivet Larico Sanchp y Delia Ccahuana Churata, egresadas del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María, para la Ejecución de su Tesis, “Evaluación del efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de lloque en ratas de experimentación” las muestras fueron traídas al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, de la localidad de Carumas Moquegua para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la clasificación y especie:

División : Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Subclase : Rosidae

Orden : Rosales


Familia : Rosaceae

Género : *Kageneckia*

Especie : *Kageneckia lanceolata* Ruiz & Pav.

Se expide la presente solicitud del interesado para los fines que se estimen conveniente.

Arequipa 06 de Octubre del 2015.


Bgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)



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