UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA AGUDA Y CRÓNICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL ALGA *Colpomenia sinuosa* OBTENIDA EN LA PROVINCIA DE PISCO".

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. ALMANZA CANO, SORELÍA

Bach. CÓRDOVA MÁLAGA, SARITA

ASESORES:

Dra. HAYDEÉ CHÁVEZ ORELLANA

Dr. JORGE LUIS ARROYO ACEVEDO

ICA - PERÚ

2014

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser la luz que siempre ilumina nuestro camino y nos da la fortaleza para seguir hacia adelante, y por darnos una familia luchadora e incondicional que están en todo momento con nosotras y que son la mejor motivación para seguir cumpliendo nuestras metas y objetivos a pesar de las dificultades de la vida.

Agradecemos de manera especial a nuestros asesores:

Q.F. Haydeé Chávez Orellana y Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo

Profesionales de calidad y pilar fundamental en el desarrollo de éste trabajo por su valiosa colaboración y asesoramiento.

A mis Padres:

Manuel y Ana

Hermanos:

Christian y Bernardo

Por su amor y apoyo incondicional, por sus consejos y motivación constante, por ser mi fortaleza y hacer de mí una persona con valores y principios.

A mis maestros (as) y Amigos

Que han marcado cada etapa de mi vida y en especial mi etapa universitaria, que con sus consejos, enseñanzas han permitido encaminarme a ser un gran profesional.

Sarita T.

A mis Padres:

Isabel y Atilio

Y Hermanos.

Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis metas, por motivarme y darme la mano en todo momento, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

A mis maestros (as) y Amigos

Por las lecciones y experiencias para formarme como una persona de bien y preparada para los retos que pone la vida a todos y cada uno de ellos le dedico cada una de las páginas de mi tesis.

Sorelia

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
ANTECEDENTES	5
2.1.- UBICACIÓN GEOGRÁFICA	8
2.2.- DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA	9
2.3.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	10
2.4.- INFLAMACIÓN	10
2.4.1.- SIGNOS CLÍNICOS DE INFLAMACIÓN	11
2.4.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN	12
2.4.3. ETAPAS DE LA INFLAMACIÓN	14
2.4.4. CLASIFICACIÓN	15
2.4.5. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS	19
2.4.6 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS UTILIZADOS EN EL ENSAYO	23
3. PARTE EXPERIMENTAL	26
3.1.- ESTUDIO FITOQUÍMICO	27
3.1.1 MATERIALES	27
3.1.2 MÉTODOS	28

3.2.- ESTUDIO FARMACOLÓGICO 30

3.3 MÉTODO ESTADÍSTICO 40

4. RESULTADOS 41

5. DISCUSIÓN 60

6. CONCLUSIONES 63

7. RECOMENDACIONES 64

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 65

9. ANEXOS 71

LISTA DE CUADROS

Cuadro No. 01. Media de la diferencia entre los pesos de las orejas inflamadas y no inflamadas de los animales de experimentación según tratamientos evaluados. 42

Cuadro No.02. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados. 44

Cuadro No.03. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados. 45

Cuadro No.04. Media de las mediciones al inicio de la experimentación según tratamientos evaluados. 46

Cuadro No.05. Media y desviación estándar de las mediciones a la 1era hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados. 46

Cuadro No.06. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados a la hora de iniciada la experimentación. 48

Cuadro No.07. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados a la hora de iniciada la experimentación. 49

Cuadro No.08. Media y desviación estándar de las mediciones a la 2da hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados. 50

Cuadro No.09. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados a la 2da hora de iniciada la experimentación. 51

Cuadro No.10. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados a la 2da hora de iniciada la experimentación. 52

Cuadro No.11. Media y desviación estándar de las mediciones a la 4ta hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados. 53

Cuadro No.12. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados a la 4ta hora de iniciada la experimentación. 55

Cuadro No.13. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados a la 4ta hora de iniciada la experimentación. 56

Cuadro No.14. Tablas ANOVA para los indicadores de la actividad antiinflamatoria crónica. 57

Cuadro No.15. Media y desviación estándar de las proporciones de PMN según los tipos de tratamiento. 58

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico No. 01. Promedios de inflamación de los tratamientos administrados en el test edema auricular inducido por carragenina. 43

Gráfico No. 02. Porcentaje de inflamación de los tratamientos administrados en el test edema auricular inducido por carragenina. 44

Gráfico No. 03. Porcentaje de inhibición de los tratamientos administrados en el test edema auricular inducido por carragenina. 45

Gráfico No. 04. Promedios de inflamación de los tratamientos evaluados a la hora de iniciado la experimentación. 47

Gráfico No. 05. Porcentajes de inflamación de los tratamientos administrados en el test edema sub-plantar inducido por carragenina a una hora del tratamiento. 48

Gráfico No. 06. Porcentajes de inhibición de los tratamientos administrados en el test edema sub-plantar inducido por carragenina a una hora del tratamiento. 49

Gráfico No. 07. Promedios de inflamación de los tratamientos evaluados a la hora de iniciado la experimentación. 51

Gráfico No. 08. Porcentajes de inflamación a la segunda hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina. 52

Gráfico No. 09. Porcentajes de inhibición a la segunda hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina. 53

Gráfico No. 10. Promedios de inflamación de los tratamientos evaluados a la cuarta hora de iniciada la experimentación. 54

Gráfico No. 11. Porcentajes de inflamación a la cuarta hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina. 55

Gráfico No. 12. Porcentajes de inhibición a la cuarta hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina. 56

Gráfico No. 13. Porcentaje de células PMN de los tratamientos evaluados en el Test del granuloma inducido por carragenina. 59

RESUMEN

Colpomenia sinuosa (Derbès y Solier) conocida como "Globito" es una macroalga utilizada generalmente por los pobladores de la bahía de Paracas en forma de emplastos, en el tratamiento de inflamaciones ocasionados por golpes.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antiinflamatoria aguda y crónica del extracto etanólico de ésta alga, donde se utilizaron el Test del edema sub-plantar inducido con carragenina según Winter, el edema auricular inducido con xileno según Young y el test del granuloma inducido por carragenina utilizando una modificación de la técnica descrita por Sedwick y Lees. Se utilizaron 36 ratas en cada método, formando seis grupos a los que se les administró vía oral el extracto Etanólico en dosis de 100, 250 y 500 mg/Kg, siendo Control Negativo: El vehículo y Control Positivo: Dexametasona 2 mg/Kg y Diclofenaco 50 mg/Kg.

Los resultados obtenidos demuestran que el extracto a una dosis de 100 mg/Kg presenta mayor eficacia sobre la inflamación aguda mediante el test de Edema auricular y el test de edema sub-plantar, sin embargo su eficacia es menor al compararlas con la dexametasona y el diclofenaco, en la 1ra, 2da hora y 4ta hora de iniciada la experimentación. El extracto a una dosis de 500 mg/kg presenta mejor eficacia que los demás fármacos en el control de la inflamación crónica tomando como indicador la presencia de células polimorfonucleares.

Palabras claves: *Colpomenia sinuosa,* inflamación aguda y crónica

SUMMARY

Sinuous Colpomenia (Derbès and Solier) commonly known as " Globito " is generally used by macroalgae of the population in the Bay of Paracas as plasters, in the treatment of inflammations caused by strokes.

The present study aimed to evaluate acute and chronic anti-inflammatory activity of the ethanol extract of this alga , where the Test of edema were used sub - plantar induced with carrageenan as Winter, ear edema induced by xylene according to Young and test induced granuloma carrageenan using a modification of the technique described by Sedgwick and Lees . 36 rats were used in each method, forming six groups which were administered orally ethanolic extract in doses of 100, 250 and 500 mg / kg, with negative control (vehicle) and positive control : Dexamethasone 2 mg / kg and diclofenac 50 mg / kg .

The results demonstrate that the extract at a dose of 100 mg / kg exhibits greater efficacy on acute inflammation using the test receiver and sub-plantar edema. Extract at a dose of 500 mg / kg has better efficacy than other drugs in the control of chronic inflammation using as indicator the presence of polymorphonuclear cells.

Keywords: winding Colpomenia, acute inflammation and chronic.

1.- INTRODUCCIÓN

La gran variedad de organismos que habitan en mares y océanos y las posibles propiedades farmacológicas y médicas de sus extractos, hacen del medio marino una fuente potencial de fármacos y un campo abierto a la investigación en farmacognosia marina. [1][2]

Es así que en la actualidad, las algas, han atraído la atención de muchos investigadores como fuentes de compuestos biológicamente activos como: antioxidantes, antiinflamatorios, fitosteroles, entre otros; debido a sus propiedades biológicas, la diversidad de sus moléculas que tienen estructuras químicas complejas y novedosas que son difíciles de sintetizar [3][4][5]; un compuesto representativo de las algas pardas debido a su gran número de propiedades es el epitaondiol que inhibe la fosfolipasa A2 y la formación y/o liberación de prostaglandinas y leucotrienos.[14][15]

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico frente a un daño ocasionado por patógenos bacterianos o por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica que en ocasiones transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a reacciones de hipersensibilidad y enfermedades crónicas, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis y la fibrosis pulmonar. [9]. También la inflamación es uno de los procesos más frecuentes dentro de la población que acompaña a una gran variedad de enfermedades y esto ocasiona que las personas busquen alternativas para obtener alivio. [10]

Las algas marinas utilizadas en el presente trabajo crecen a escasa profundidad, son fáciles de colectar y no son tóxicas; además que muchas veces se encuentran varadas en abundancia lo cual puede llegar a constituir una forma de contaminación ambiental de carácter orgánico en las playas[6][7][8]

En el presente trabajo se persigue como objetivo principal evaluar la actividad antiinflamatoria aguda y crónica del extracto etanólico del alga *Colpomenia sinuosa*, y de ésta manera contribuir en la búsqueda de nuevas alternativas a los fármacos antiinflamatorios usados en la actualidad, que demuestran su eficacia clínica, pero se observan efectos adversos ocasionados por el continuo uso de los mismos, por lo que muchas veces se opta por el uso de productos naturales los que presentarían menos efectos adversos como es el caso de los productos marinos.

Por lo anterior nos planteamos los siguientes objetivos específicos:

- Identificar la dosis de mayor actividad antiinflamatoria aguda del extracto etanólico de alga *Colpomenia sinuosa* mediante la prueba de edema auricular.
- Identificar la dosis de mayor actividad antiinflamatoria aguda del extracto etanólico de alga *Colpomenia sinuosa* mediante la prueba de edema sub-plantar.
- Identificar la dosis de mayor actividad antiinflamatoria crónica del extracto etanólico de alga *Colpomenia sinuosa* mediante los indicadores bioquímicos del proceso inflamatorio

2. MARCO TEÓRICO

POTENCIAL FARMACOLÓGICO DE ALGAS MARINAS DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO. [11]

En este trabajo se estudiaron los extractos etanólicos de 62 especies de algas probándose la actividad antibacteriana, antioxidante, citotóxica, anti-bioincrustante e inhibitoria de los mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos, obteniéndose que 12 (20%) de ellos en combinación con la ampicilina fueron capaces de revertir la resistencia de *S. aureus* y 8 (13%) con eritromicina la de *S. pyo*genes. El extracto de *Sargassum horridum* (04-003) fue el único que revirtió la resistencia de *S. aureus* y *S. pyogenes* a la ampicilina y eritromicina, respectivamente.

Adicionalmente el 80% de los extractos fueron activos contra al menos uno de los microorganismos de prueba y el 51% contra dos microorganismos probados, en el ensayo contra *M. tuberculosis* solo 5 (8%).

EFECTOS NEFROPROTECTORES DE *Colpomenia sinuosa* (DERBES Y SOLIER) CONTRA EL TETRACLORURO DE CARBONO QUE CAUSA LESIÓN RENAL INDUCIDA EN RATAS WISTAR. [12]

Para el presente trabajo se emplearon ratas Wistar machos (150 - 220g) los que fueron expuestos a CCl4 (1,5 ml / kg) por inyección y después se trató con algas marinas *Colpomenia sinunosa* (100 mg / kg de peso corporal en solución de CMC al 0,3 %). La sangre se recogió en el quinto día del período

experimental para estimar el recuento total de células totales (CT), hemoglobina (Hb), proteína total (TP), glucosa, albúmina, colesterol, TGL y urea.

Los resultados muestran que disminuyó significativamente el nivel de CT (células totales) (0,01 p <), los niveles de colesterol y urea muestra un incremento significativamente (P < 0,05) en los grupos tratados con CCl4 en comparación con grupos de control. Se encontró que estos niveles fueron normalizados por la alimentación oral de *C. sinuosa*.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el efecto nefroprotector de C. sinuosa puede atribuirse a sus efectos potenciadores sobre el sistema de defensa antioxidante y para evitar el daño por la exposición de la toxicidad de CCl4.

EVALUACIÓN DE LA PROPIEDAD ANTIOXIDANTE DEL ALGA PARDA *Colpomenia sinuosa* (DERB. ET SOL). [13]

Se extrajo 10 g de polvo de algas secuencialmente con 100 ml de éter dietílico (98%) y metanol (99%). Posteriormente, el residuo de éter dietílico se disolvió en dimetil sulfóxido (DMSO) y el residuo de metanol en metanol.

Los extractos obtenidos se sometieron a los siguientes ensayos para evaluar el potencial antioxidante: Ensayo de captación de radicales DPPH (hidracilo 1,1-difenil-2-picrilo), ensayo de inhibición de radicales de óxido nítrico, ensayo de captación de radicales peróxido de hidrógeno, ABTS [2,-2'-azinobis (ácido 3-

etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] ensayo de compactación radical catión para evaluar su propiedad antioxidante.

El extracto con sulfóxido de dimetilo (DMSO) y metanol mostraron mayor actividad antioxidante en DPPH (96,56 y 88,57%), radical óxido nítrico (81,2 ± 4,1% y 76,69 ± 3,1%), peróxido de hidrógeno (70,7 ± 3,5 y 56,6 ± 2,0%) y ABTS (76,8 ± 3,8% y 74,0 ± 2,8%).

La actividad moderada se observó en la capacidad antioxidante total (60,3 ± 4,3 y 57,0 ± 2,0) ensayo.

La actividad fue más alta al compararse a la de los antioxidantes comerciales hidroxi anisol butilado (BHA) (87,38 ± 1,32%) y tolueno hidroxi butilado (BHT) (56,05 ± 0,19%) en la concentración de 2 mg / mL. La actividad significativa de compactación de los radicales libres de *Colpomenia sinuosa* indicó que podría ser una fuente potencial antioxidante de moléculas.

INHIBICIÓN DE LAS RESPUESTAS INFLAMATORIAS POR EPITAONDIOL Y OTROS PRODUCTOS NATURALES MARINOS. [14][15]

El pacifenol, triacetato estipotriol y epitaondiol son metabolitos marinos cuyos efectos fueron probados sobre una serie de respuestas inflamatorias. El epitaondiol mostró una potente actividad anti-inflamatoria tópica relacionada con la inhibición de la acumulación de leucocitos. Los otros compuestos mostraron una menor potencia, similar a la de la indometacina. Ninguno de los compuestos afectaron la generación de superóxido por los neutrófilos humanos, el pacifenol inhibió eficazmente la respuesta de la desgranulación. Éste

compuesto y epitaondiol disminuyó la liberación de eicosanoides con una potencia más alta de la vía de la ciclooxigenasa. Sólo epitaondiol inhibió la fosfolipasa A2 de una manera dependiente de la concentración.

2.1.- UBICACIÓN GEOGRÁFICA. [6]

Colpomenia sinuosa (Mertens ex Roth) Derbès y Solier conocida como "Globito" es una especie de alga marina que proviene de la playa denominada "El Chaco" (Bahía de Paracas) provincia de Pisco, departamento de Ica.

Ésta alga es muy característica por su forma vesiculosa y por la cantidad que crece en verano y primavera, generalmente se desarrollan en la intramarea rocosa y sobre otras algas.

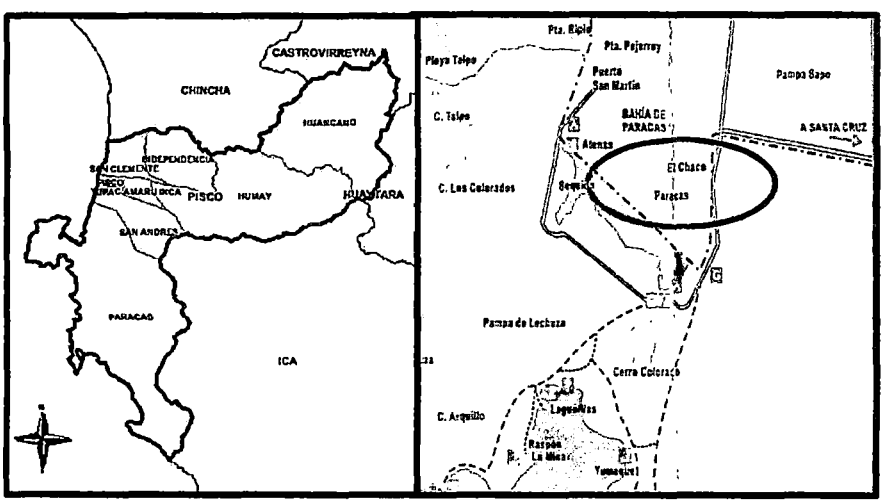


Figura N° 1. Ubicación Geográfica de Colpomenia sinuosa en el Departamento de Ica, provincia de Pisco, playa denominada "El Chaco" (Bahía de Paracas)

Fuente : http://www.playasperu.com/playas/mapas/pages/icapiscoparacas.html

2.2.- DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA. [4][16]

Algas de color café claro a oscuro, el talo de hasta 5 centímetros de aspecto globoso, saculiforme, huecas y normalmente llenas de agua. La superficie es irregular a levemente lisa.

Al principio el talo es globular, sólido y sin pelos. Luego irregular, hueco, con paredes de varios estratos de células progresivamente más pigmentadas y pequeñas hacia la superficie.

Alcanzan hasta los 10 cm de diámetro. Las algas se fijan al sustrato a través de una base ancha.

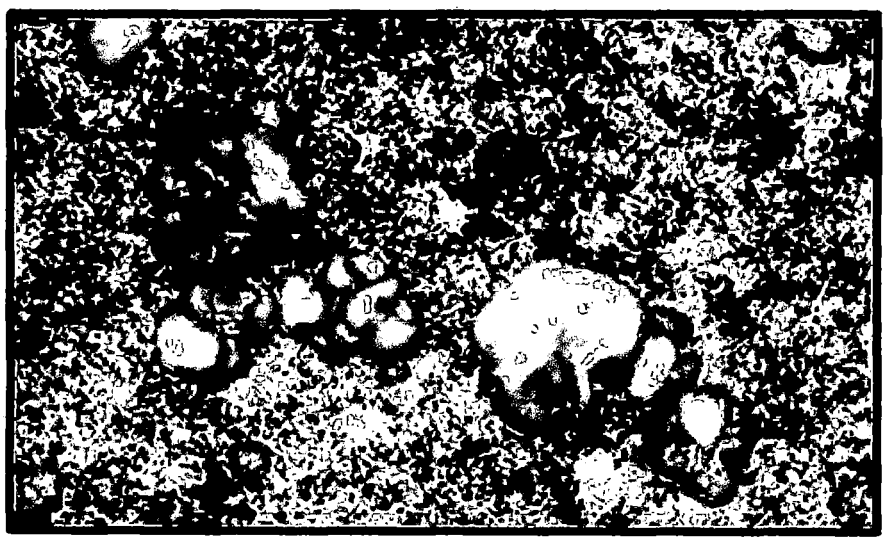


Figura N° 2: Colpomenia sinuosa (Mertens ex Roth) Derbès y Solier

Fuente: http://www.marinelifephotography.com/marine/seaweeds/colpomenia-sinuosa.htm

2.3.- CLASIFICACION TAXONÓMICA. [16]

Fue realizado siguiendo el protocolo de Acleto:

Reino: PLANTAE

Subreino: VIRIPLANTAE

División: PHAEOPHYTA

Orde : SCYTOSIPHONALES

Familia : SCYTOSIPHONACEAE

Género : COLPOMENIA

Especie : ***Colpomenia sinuosa***

2.4.- INFLAMACIÓN. [17][18]

La inflamación puede definirse como una reacción defensiva local integrada por alteración, exudación y proliferación. Se le ha llamado «el síndrome local de adaptación». La reacción es desencadenada por estímulos nocivos de muy diversa naturaleza: físicos, químicos, mecánicos y microorganismos patógenos como bacterias, hongos y parásitos.

La respuesta inflamatoria ocurre sólo en tejido conectivo vascularizado frente a un agente que provoca daño tisular a fin de localizar, eliminar o en su defecto aislar al agente nocivo y tejido dañado, para así permitir posteriormente la reparación por mecanismos regenerativos, un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica.

En éste proceso intervienen factores solubles y células que se denominan mediadores inflamatorios.

Dentro de los mediadores de la Inflamación se encuentran: bradicininas, histamina, óxido Nítrico, citoquinas, eicosanoides, prostaglandinas, prostaciclinas, leucotrienos y tromboxanos.

2.4.1.- SIGNOS CLÍNICOS DE INFLAMACIÓN. [19] [20]

Entre los cambios locales están los denominados signos cardinales de la inflamación como son:

- **El rubor :** Enrojecimiento, debido principalmente a los fenómenos de aumento de presión por vasodilatación
- **El tumor:** Aumento de volumen, aumento del líquido intersticial y formación de edema.
- **El calor:** Aumento de la temperatura de la zona inflamada. Se debe a la vasodilatación y al incremento del consumo local de oxígeno.
- **El dolor:** El dolor aparece como consecuencia de la liberación de sustancias capaces de provocar la activación de los nociceptores, tales como las prostaglandinas.
- **Pérdida o disminución de la función**: Ocurre como consecuencia de la síntesis de mediadores y de la lesión mediada por leucocitos.

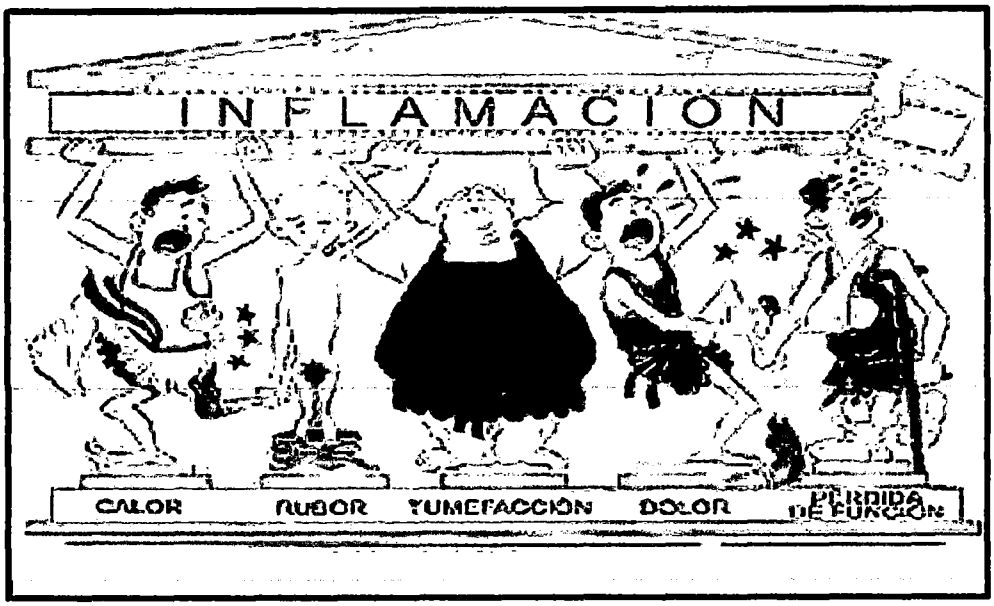


Figura N° 3 - Signos cardinales de la inflamación

Fuente:http://eusalud.uninet.edu/misapuntes/index.php/Inflamaci%C3%B3n_Aguda

2.4.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN. [21] [22]

En el organismo, una agresión exógena (agentes biológicos, agentes físicos, agentes químicos o traumatismos) o endógena (radicales libres, determinados metabolitos celulares, alteraciones inmunitarias, neurotransmisores u hormonas) es interpretada por el sistema inmune como una señal de alerta.

Los receptores de membrana de los macrófagos y los mastocitos reaccionan al estímulo liberando una serie de mediadores de la inflamación ya sean de origen lipídico derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos), aminoácidos modificados (histamina, serotonina) o pequeñas proteínas (citoquinas proinflamatorios) que desencadenan una serie de reacciones con la intención de neutralizar la agresión.

Ante el agente patógeno, a nivel intracelular se activa el factor de transcripción nuclear NF-kB que induce la expresión de determinados genes que codifican para proteínas proinflamatorias como las citoquinas (IL-1,IL-4, IL-6,IL-8) interferones (IFN-γ), factores de necrosis tumoral (TNF-α).

Paralelamente, en la membrana celular la enzima fosfolipasa A2 descompone los fosfolípidos de membrana en glicerol y ácido araquidónico, que será el sustrato que utilizará la enzima ciclooxigenasa (COX) para producir prostaglandinas (como la PGE2) en el caso de los macrófagos y PGD2 en el caso de los mastocitos) y tromboxanos (TXA2 en plaquetas), o el sustrato de la enzima lipooxigenasa (LOX) para producir leucotrienos y lipoxinas. En la inflamación aguda, una vez controlada la agresión, los macrófagos y leucocitos proceden a la reparación tisular liberando nuevos mediadores, esta vez citoquinas antiinflamatorias (IL-10, factores de crecimiento, TGFB y otros) para restaurar la homeostasis.

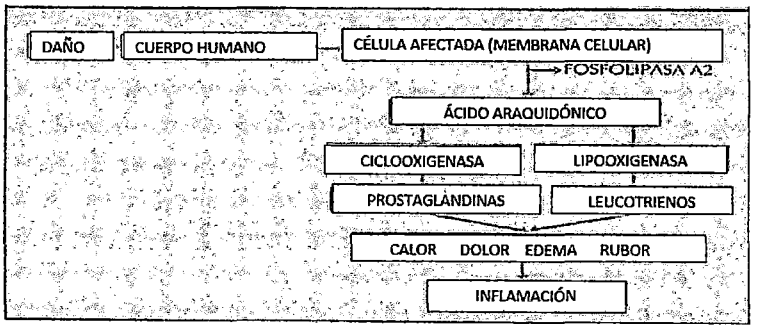


Figura N° 4 Mediadores de la inflamación

Fuente: http://bvs.sld.cu/revistas/med/vol39_2_00/med07200.htm

2.4.3. ETAPAS DE LA INFLAMACIÓN. [23]

De forma esquemática podemos dividir la inflamación en cinco etapas:

1- Liberación de mediadores. Son moléculas, la mayor parte de ellas, de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la actuación de determinados estímulos.

2- Efecto de los mediadores. Una vez liberadas, estas moléculas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.

3- Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Proceden en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes al foco.

4- Regulación del proceso inflamatorio. Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendentes a finalizar o equilibrar el proceso.

5- Reparación. Fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria.

2.4.4. CLASIFICACIÓN.

2.4.4.1. INFLAMACIÓN AGUDA. [17][24][25]

La inflamación aguda es una reacción inmediata y temprana a un agente lesivo, de duración relativamente corta (minutos, horas o unos pocos días), se inicia muy rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos predominantemente neutrófilos. Se manifiesta clínicamente por signos y síntomas característicos, que se presentan en mayor o menor grado: dolor, calor, rubor (enrojecimiento), edema (hinchazón).

2.4.4.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA INFLAMACIÓN AGUDA:

1. **VASODILATACIÓN** con cambios en el flujo y calibre vascular, que hacen que aumente el flujo sanguíneo
2. **AUMENTO DE LA PERMEABILIDAD VASCULAR** con salida de proteínas plasmáticas que inducen la formación de exudado inflamatorio.
3. **MIGRACIÓN Y ACTIVACIÓN LEUCOCITARIA: NEUTRÓFILOS.**

En condiciones normales están circulando en el torrente sanguíneo (espacio vascular), y cuando reciben un gradiente de quimiocinas se extravasan al foco lesivo. Por lo tanto los neutrófilos pasan a la matriz extracelular cuando hay tejido inflamado.

En la inflamación aguda, al producirse daño tisular, la microcirculación sufre una serie de cambios que incluyen dilatación de arteriolas y vénulas (vasodilatación) y apertura de los vasos de pequeño calibre. Esta vasodilatación

tiene como consecuencia un aumento del aporte sanguíneo o hiperemia que se traduce en los signos rubor y calor.

Tras ésta fase aumenta la viscosidad de la sangre, lo que reduce la velocidad del flujo sanguíneo. Al disminuir la presión hidrostática en los capilares, la presión osmótica del plasma aumenta, y en consecuencia un líquido rico en proteínas sale de los vasos sanguíneos originando el exudado inflamatorio.

2.4.4.1.2. CAUSAS

El proceso infeccioso es INESPECÍFICO. Existen diversos estímulos desencadenantes:

- ✓ Infecciones (microorganismos y sus toxinas)
- ✓ Trauma
- ✓ Agentes físicos (calor, frío, radiación)
- ✓ Agentes químicos
- ✓ Necrosis Tisular: el tejido muerto activa al sistema inflamatorio agudo.
- ✓ Cuerpo extraño
- ✓ Reacciones inmunes ("hipersensibilidad")

2.4.4.2. INFLAMACIÓN CRÓNICA. [17], [25], [26], [27]

La inflamación crónica dura semanas, meses o incluso años y se caracteriza histológicamente por la presencia de macrófagos y sus derivados (células epitelioides y gigantes), linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos y fibroblastos.

2.4.4.2.1. CARACTERISTICAS DE INFLAMACIÓN CRÓNICA

1.- INFILTRADO CELULAR: compuesto sobre todo por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.

2.-DESTRUCCIÓN HÍSTICA: Provocada en gran medida por células inflamatorias.

La reacción inflamatoria es más productiva que exudativa, es decir, que la formación de tejido fibroso prevalece sobre el exudado de líquidos.

3.- REPARACIÓN: Implica proliferación de nuevos vasos (angiogenia)

2.4.4.2.2. CAUSAS

Entre las causas de la inflamación crónica se pueden distinguir:

a) Progresión de una inflamación aguda;

b) Episodios recurrentes de inflamación aguda

c) Inflamación crónica desde el comienzo asociada frecuentemente a infecciones intracelulares (tuberculosis, lepra, etc).

2.4.4.2.3. INFLAMACIÓN GRANULOMATOSA. [27]

Algunas formas de inflamación crónica tienen una histología peculiar que consiste en el acúmulo de macrófagos modificados llamados epitelioides formando unos agregados nodulares llamados granulomas. Las células epitelioides reciben ese nombre porque se asemejan a células epiteliales.

2.4.4.2.4. TIPOS DE GRANULOMA

Los granulomas pueden ser clasificados en granulomas inmunes y granulomas por cuerpo extraño. Se desarrollan frente a material extraño e inerte, endógeno o exógeno, no degradable, frente a agentes infecciosos de vida intracelular y baja patogenicidad, y frente a algunas respuestas autoinmunes. Los granulomas inmunes se producen como consecuencia del desarrollo de una respuesta inmune adaptativa, en la que participa la inmunidad celular con activación de linfocitos TCD4+ Th1 (hipersensibilidad retardada o tipo IV), la cual se monta en respuesta a la presencia de agentes patógenos de vida intracelular. El granuloma puede ir asociado a:

- Necrosis.
- Fibrosis: que limita perfectamente el granuloma como ocurre en la sarcoidosis.
- Linfocitos y células plasmáticas: rodeándolo.
- Otros granulomas: no individuales, sino fusionados (tuberculosis o brucelosis).

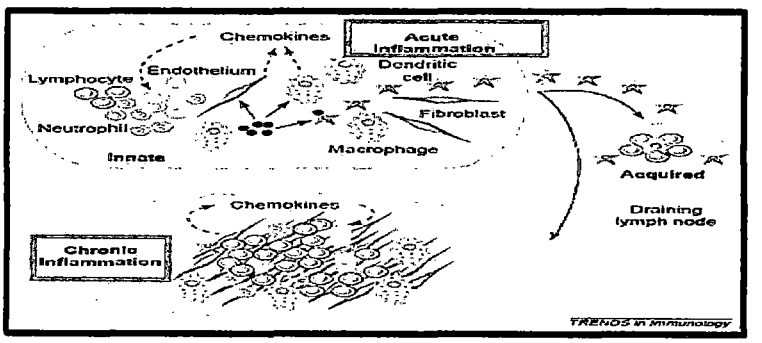


Figura N° 5 Inflamación Aguda y Crónica

Fuente: http://dc387.4shared.com/doc/eE7dMpdU/preview.html

2.4.5.- FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS. [24], [28], [29]

Entre los fármacos capaces de reducir los signos y síntomas de la inflamación se encuentran los AINES y los glucocorticoides.

2.4.5.1.-ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINE)

Las drogas Antiinflamatorias No Esteroides (AINE) en general son un grupo de agentes de estructura química diferente que tienen como mecanismo de acción fundamental la disminución de la síntesis de prostaglandinas, mediada por su inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Al compartir su mecanismo básico de acción, la mayor parte de estas drogas comparten también gran parte de sus acciones farmacológicas y de sus efectos indeseables.

En el arsenal terapéutico actual los AINES ocupan un lugar de gran importancia. Son agentes que en muchas patologías se utilizan crónicamente y a veces de por vida, como por ejemplo en la artritis reumatoidea, osteoartritis, espondilitis anquilosante, entre otras, por lo que la relación costo-riesgo beneficio, debe ser considerada siempre por el prescriptor.

- **MECANISMO DE ACCIÓN**

El mecanismo básico de éstos fármacos es la inhibición de la ciclooxigenasa, una enzima que convierte el ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos, los cuales se transforman en prostaglandinas y en tromboxanos mediadores de la inflamación y factores biológicos locales.

En los últimos años, se descubrió que dicha enzima tiene dos isoformas, la COX -1 y la COX-2, estableciéndose que la primera es constitutiva y expresada en múltiples tejidos como el tracto gastrointestinal, las plaquetas y los riñones, mientras que la COX -2 es una enzima inducible a la respuesta de múltiples estímulos de la reacción inflamatoria.

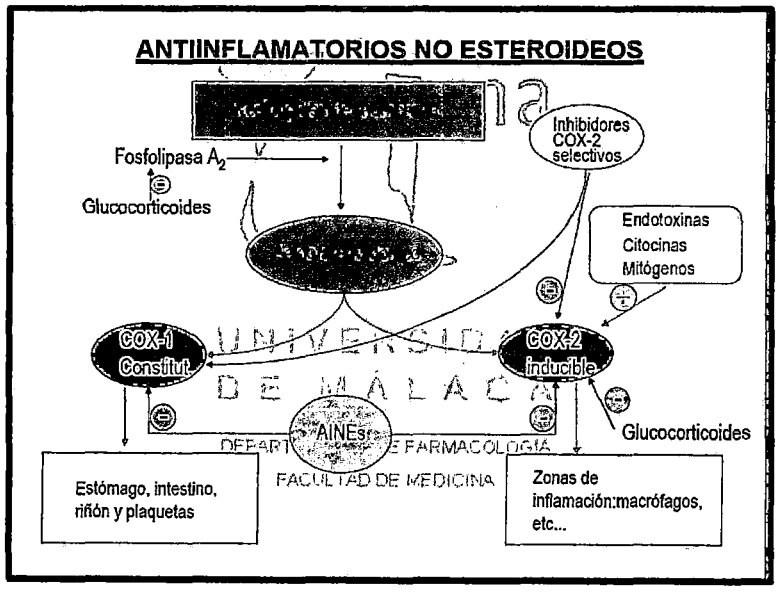


Figura N° 6 Mecanismo de Acción de los AINES

Fuente: http://www.clasaanestesia.org/revistas/chile/HTML/ChileEfectos_Gastrointestinales_De_Lo.htm

2.4.5.2.- ANTIINFLAMATORIOS ESTEROIDES- GLUCOCORTICOIDES

Los glucocorticoides son potentes supresores de la inflamación. Estos pueden evitar o suprimir la inflamación en respuesta a múltiples fenómenos incitantes, entre ellos, estímulos radiantes, mecánicos, químicos, infecciosos e inmunitarios. Aunque el uso de glucocorticoides como antiinflamatorios no ataca la causa fundamental de la enfermedad, la supresión de la inflamación posee enorme utilidad clínica, y ha hecho que esos compuestos figuren entre los que se prescriben con mayor frecuencia.

Los efectos adversos graves que pueden observarse durante la terapia prolongada con corticosteroides o por la supresión de la misma, los convierte en medicamentos de sumo cuidado y de consideración cuidadosa en cuanto a los riesgos y beneficios relativos en cada paciente. Por otro lado, éstos efectos secundarios también han creado cierto temor en cuanto a su uso en los pacientes, aún cuando en muchos casos la terapia no presenta efectos colaterales serios.

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS GLUCOCORTICOIDES

- Los glucocorticoides acoplándose con un receptor de membrana citoplasmática específico entran a las células blanco, induciendo una serie de respuestas que modifican la transcripción y, por tanto, la síntesis de proteínas. Dentro de ellas la macrocortina (lipocortina) que inhibe la

fosfolipasa A2, con lo cual modulan la liberación de ácido araquidónico, bloqueando la producción de ciclooxigenasa y lipooxigenasa disminuyendo así la síntesis de sustancias proinflamatorias.

- Inhiben la acumulación de células inflamatorias incluyendo macrófagos y leucocitos.
- Inhibe la fagocitosis.
- Producen una reducción en la producción de citocinas, prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y Óxido nítrico.

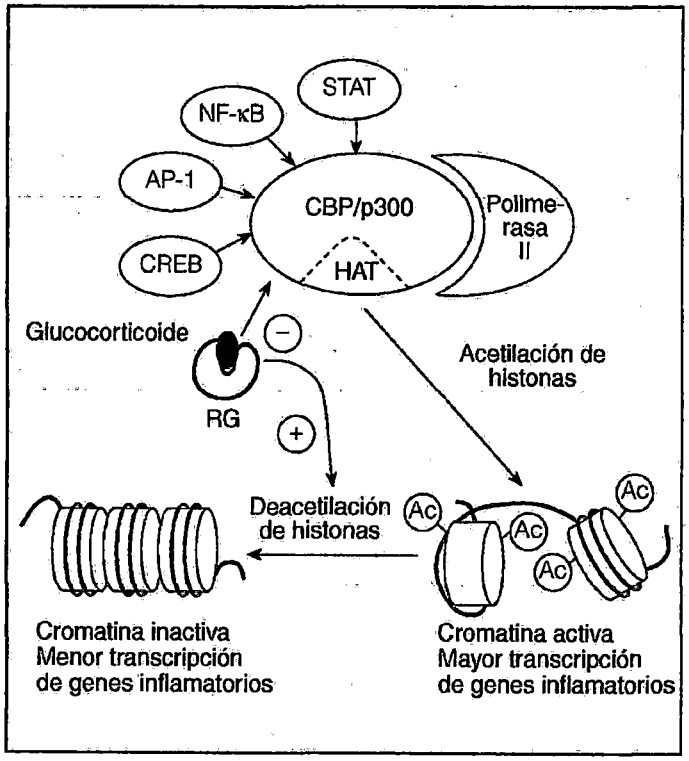


Figura N°7 Mecanismo de Acción de glucocorticoides

Fuente: http://www.docstoc.com/docs/108313256/GLUCOCORTICOIDES

2.4.6.- FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS UTILIZADOS EN EL ENSAYO FARMACOLÓGICO. [30], [31], [32]

- **DICLOFENACO**

Es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) que pertenece al grupo de los derivados del ácido fenilacético. Inhibe la síntesis de Prostaglandinas. Es un fármaco con efectos antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos de eficacia similar al naproxeno.

El diclofenaco sódico es uno de los AINE más extensamente utilizados, estudios han demostrado la efectividad del diclofenaco como analgésico y antiinflamatorio en el tratamiento coadyuvante de afecciones que cursen con inflamación y dolor, tales como trastornos musculares, articulares, periarticulares y estados inflamatorios postraumáticos y postoperatorio.

Los efectos adversos más frecuentes son en el dolor epigástrico, nauseas, diarrea, vómitos, cefaleas, mareos, vértigo, rash o erupción cutánea

El 20% de los pacientes en tratamientos a largo plazo experimentan efectos secundarios y, de éstos, un 2% tienen que descontinuar el uso del fármaco debido principalmente a efectos gastrointestinales, sangramiento gastrointestinal oculto y ulceración gástrica —aunque las úlceras ocurren con menor frecuencia que con el de otros AINE.

- **DEXAMETASONA**

Glucocorticoide con elevada acción antiinflamatoria e inmunosupresora, de larga duración de acción, con mínimo efecto mineralcorticoide por lo que no puede ser usada en el tratamiento de la insuficiencia adrenal. La dexametasona es considerada el corticoide de elección para tratar el edema cerebral ya que es el mejor que penetra el sistema nervioso central.

Por vía tópica es muy eficaz en casos de procesos inflamatorios de la piel, oído y nariz. En solución acuosa es activa por vía local y se metaboliza rápidamente, por lo que en dosis adecuadas no llegan a ocasionar supresión importante del eje hipotálamo – hipófisis suprarrenal.

La gravedad de las reacciones adversas, tanto sistémicas como locales aumentan con la duración del tratamiento o con la frecuencia de la administración.

Las administraciones en dosis únicas o en número reducido no suelen provocar efectos secundarios, pero la administración crónica ocasiona la atrofia de las glándulas suprarrenales y una depleción generalizada de proteínas.

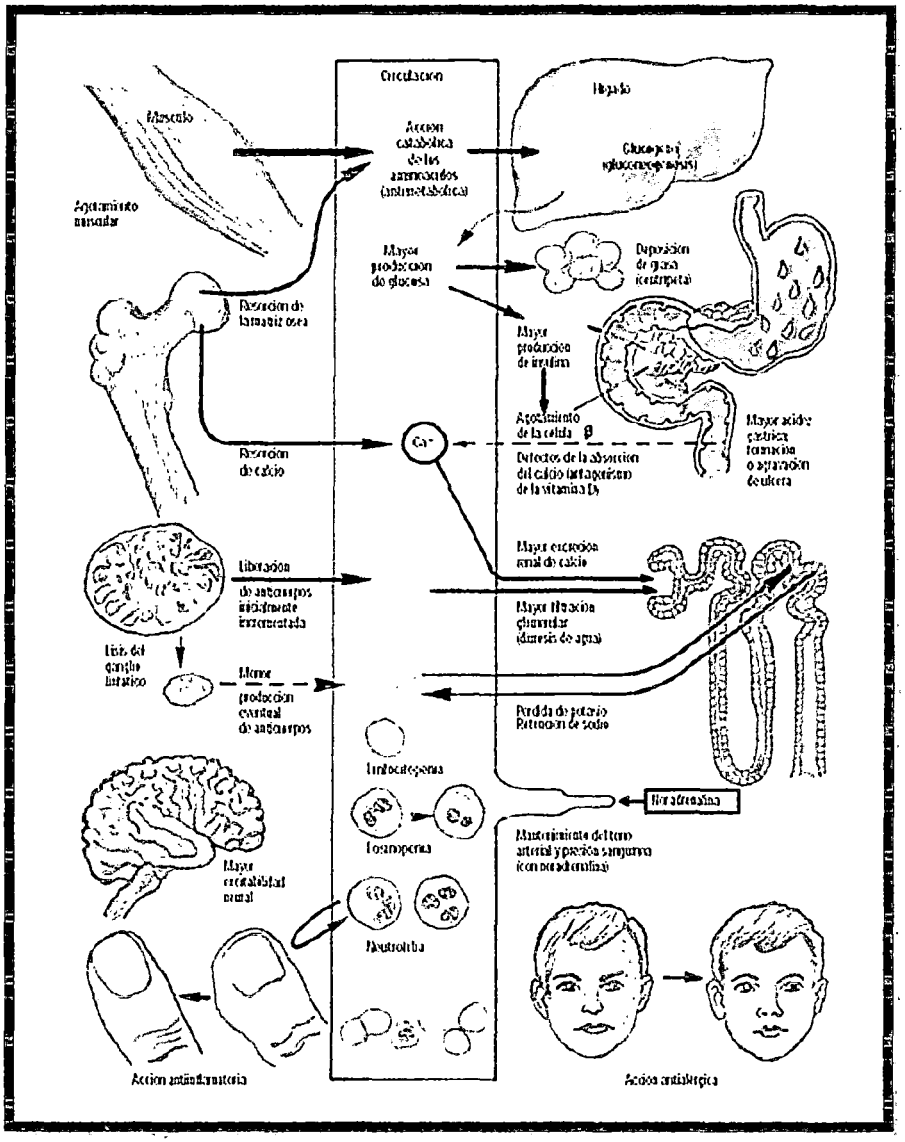


Figura N° 8 Reacciones adversas de glucocorticoides

Fuente: file:///C:/Users/usuario/Downloads/Pecci%20(2).pdf

3.- PARTE

EXPERIMENTAL

3.1.- ESTUDIO FITOQUÍMICO

3.1.1 MATERIALES:

- **Material Vegetal**
  - Alga *Colpomenia sinuosa*
- **Materiales de laboratorio**
  - Aro de soporte
  - Agitador de vidrio
  - Embudos
  - Espátulas de metal
  - Gradilla
  - Matraces Erlemeyer
  - Papel filtro
  - Pipetas
  - Tapón de goma
  - Tubos de ensayo
  - Varilla de vidrio
  - Vasos precipitados
- **EQUIPOS**
  - Agitador magnético con calefacción.
  - Rotavapor marca HEIDOLPH modelo LABORATORA 4000

3.1.2.- MÉTODOS. [6], [26], [33], [34]

3.1.2.1. RECOLECCIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA:

Colpomenia sinuosa fue recolectada en la playa denominada "El Chaco" (Bahía de Paracas - Pisco) en los meses de Setiembre y Octubre , se recolectaron algas varadas aprovechando horas de marea baja , las cuales se lavaron con agua de mar para remover el exceso de arena y organismos epífitos.

Posteriormente las algas en buen estado fueron seleccionadas, separando las deterioradas con señales de ataque de organismos epífitos o decoloradas por los daños solares. Luego se colocaron en baldes de plástico para ser transportadas.

A continuación se lavaron con abundante agua potable para eliminar material ajeno al estudio.

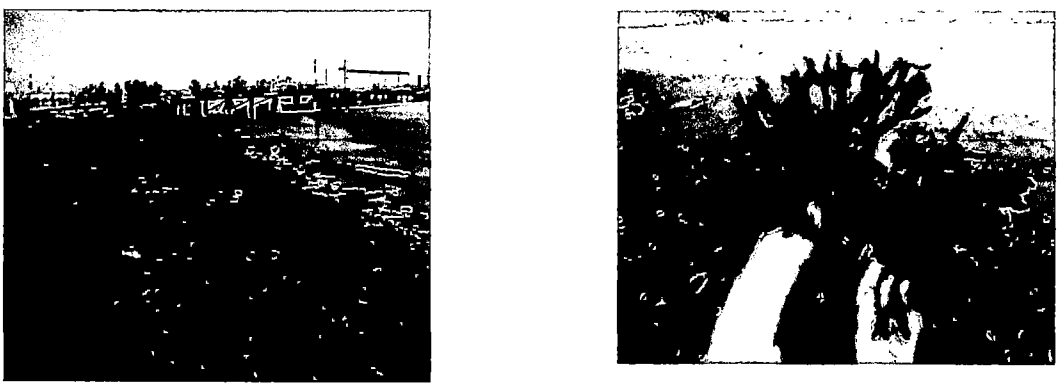


Figura N° 9 Recolección de Colpomenia sinuosa

3.1.2.2. SECADO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

El proceso de secado se realizó sin exposición a los rayos solares, extendiendo las algas en una superficie limpia por un periodo de 10 – 14 días para luego ser fragmentadas a un tamaño de 3 cm aprox. almacenándose en bolsas de papel.

3.1.2.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO:

Se realizó la extracción usando el método de reflujo, en un matraz de 1000 mL se colocaron 80 g del alga *Colpomenia sinuosa* utilizando etanol 96° como solvente. El proceso se efectuó por un periodo de 4 horas, procedimiento que se repitió hasta obtener una cantidad conveniente.

El extracto obtenido fue concentrado a sequedad a presión reducida y una temperatura de 40°C utilizando un evaporador rotatorio.

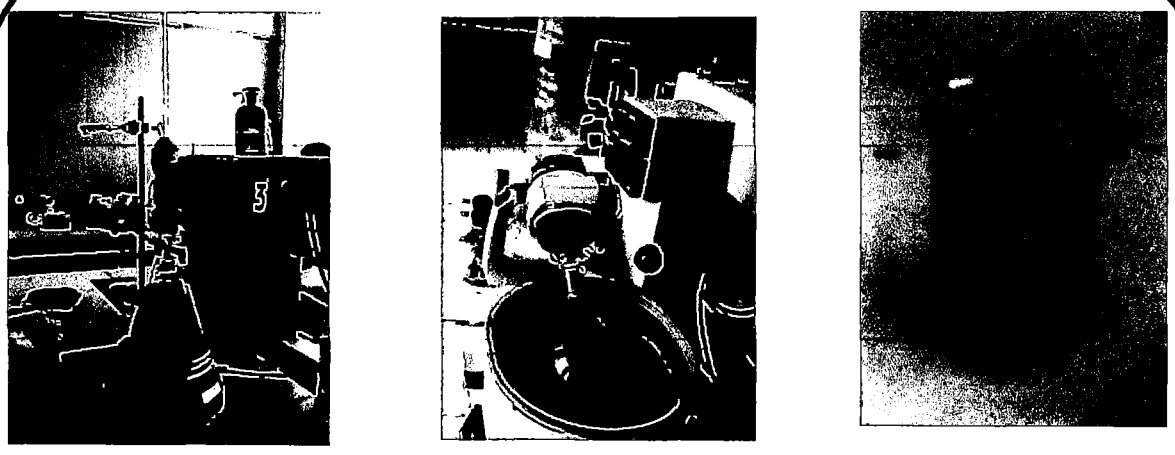


Figura N° 10. Proceso de extracción y concentración

3.2.- ESTUDIO FARMACOLÓGICO

3.2.1.- EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

➢ **MATERIALES :**

- **Material Animal**

  - Ratas albinas machos, 36 ratas machos de aproximadamente de 150-200 g de peso adquiridos en el Bioterio de la Pontificia universidad Católica del Perú.

- **Material Químico**

- Agua destilada
- Alcohol 96°
- Cloruro de Sodio 0.9%
- λ - Carragenina
- Polisorbato de Sodio (Tween 80)
- Xileno
- Pentobarbital 100mg/kg

- **Otros Materiales**

  - Bisturí
  - Frascos estériles
  - Guantes
  - Jeringas
  - Mascarillas
  - Pinzas quirúrgicas

- Saca bocados
- Tijeras quirúrgicas

- **EQUIPOS**
  - Balanza analítica Metler
  - Micrómetro Electronic Digital Caliper
- **FÁRMACOS**
  - Dexametasona 2 mg/Kg
  - Diclofenaco sódico 50 mg/Kg

3.2.1.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA AGUDA

➢ **TEST DEL EDEMA AURICULAR SEGÚN YOUNG 1989.** [35], [36], [37]

- **FUNDAMENTO:**

El método de edema auricular se basa en la aplicación de un agente irritante en la oreja del animal. Siendo en éste método el xileno el agente flobógeno, aplicado en el pabellón auditivo del animal en experimentación. La respuesta inflamatoria que se origina consiste en eritema, edema e infiltración por leucocitos polimorfonucleares. También se liberan mediadores de tipo eicosanoides y se induce desgranulación de mastocitos, en consecuencia, las sustancias inhibidoras de la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos son evaluados por éste método.

Así mismo cabe resaltar que una de las ventajas de éste método, en el ámbito de los productos naturales, es la pequeña cantidad de muestra que se requiere, debido a la acción local del agente flobógeno.

- **PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

El extracto se preparó con una mezcla de Agua destilada, alcohol y tween 80 en cantidades suficientes hasta su completa disolución.

- **DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA**

1. Se utilizó ratas albinas machos cepa Holtzman, las cuales se pesaron, codificaron.
2. Se formaron seis grupos de seis ratas cada uno a los que se les administró vía oral lo siguiente:

   Control Negativo (Vehículo): Agua destilada, alcohol y tween 80

   Control Positivo: Dexametasona 2 mg/Kg

   Diclofenaco 50 mg/Kg

   Extracto Etanólico en dosis de 100 mg/kg

   Extracto Etanólico en dosis de 250 mg/kg

   Extracto Etanólico en dosis de 500 mg/kg
3. A cada rata se le administró vía tópica 20ul de xileno en la oreja derecha, utilizado como agente flobógeno (10ul en superficie interna y 10ul en la externa del pabellón auricular) y en la oreja izquierda recibieron sólo el vehículo.

4. Cuatro horas después de la aplicación del agente irritante los animales fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital 100 mg/kg vía intraperitoneal, luego se retiró sesiones circulares de la parte central de las orejas (6 mm de diámetro) con la ayuda de un sacabocado.
5. Luego se pesaron en una balanza de precisión.
6. El edema inducido por xileno será determinado por el incremento de peso de la oreja derecha respecto a la izquierda.

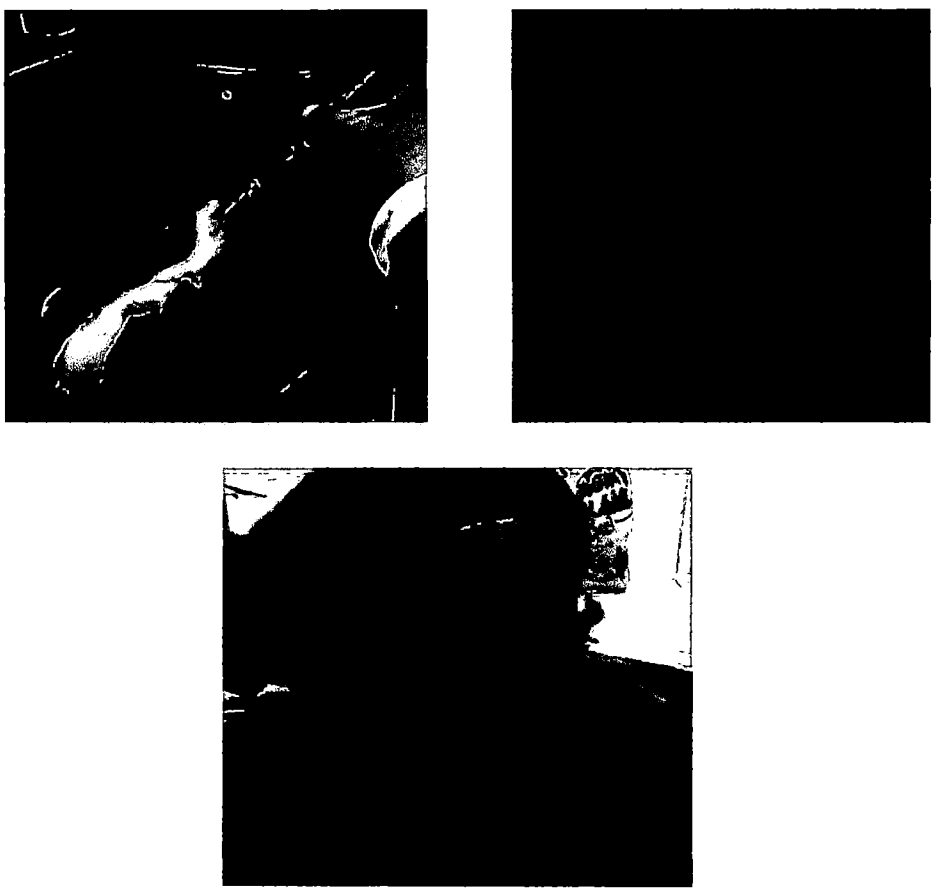


Figura N° 11.- Test del edema auricular inducido por Xileno

El porcentaje de inflamación de la oreja tratada con respecto a la sin tratar se calculó según las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ de Inflamación: } \frac{T - ST}{ST} \times 100$$

Donde:

T: media de los pesos de las orejas tratadas (derecha)

ST: media de los pesos de las orejas sin tratar (izquierda)

$$\% \text{ de Inhibición: } \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

C: Porcentaje de inflamación del grupo control

T: Porcentaje de inflamación del grupo en estudio o problema

➢ TEST DE EDEMA SUBPLANTAR EN RATAS SEGÚN WINTER. [35], [36], [37]

- **FUNDAMENTO**

El método de edema plantar por carragenina es uno de los métodos de mayor utilidad en la discriminación de fármacos antiinflamatorios por su sencillez y reproducibilidad, consiste en la administración subcutánea de una pseudosolución de λ- carragenina a nivel de la aponeurosis plantar del ratón, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas, etc.); además diversos factores del complemento están implicados en la amplificación de la respuesta.

- **PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:**

El extracto se preparó con una mezcla de etanol, tween 80 y agua destilada en cantidades suficientes hasta su completa disolución.

- **DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA**

1. Se utilizó ratas albinas machos cepa Holtzman, las cuales se pesaron, codificaron.
2. Se formaron seis grupos de seis ratas cada uno a los que se les administró vía oral lo siguiente:

   Control Negativo (Vehículo): Agua destilada, alcohol y tween 80

   Control Positivo: Dexametasona 2 mg/Kg

   Diclofenaco 50 mg/Kg

   Extracto Etanólico en dosis de 100 mg/kg

   Extracto Etanólico en dosis de 250 mg/kg

   Extracto Etanólico en dosis de 500 mg/kg
3. Inmediatamente después se mide el volumen de la pata sin inflamación con el micrómetro.
4. Luego de 30 minutos se les administró en la aponeurosis plantar derecha 0,2 mL del agente flobógeno (solución de λ- carragenina al 1%) y en la aponeurosis plantar izquierda suero fisiológico.
5. La medida del diámetro de la pata inflamada (derecha) se realizó por medición directa por un micrómetro digital en la zona plantar, ésta medición se llevó a cabo 1h, 2h, 4h después de la administración de los tratamientos.

6. Se evalúa el efecto antiinflamatorio tomando en cuenta los datos obtenidos del promedio de la inflamación de las patas en los tiempos 1h, 2h, 4h.

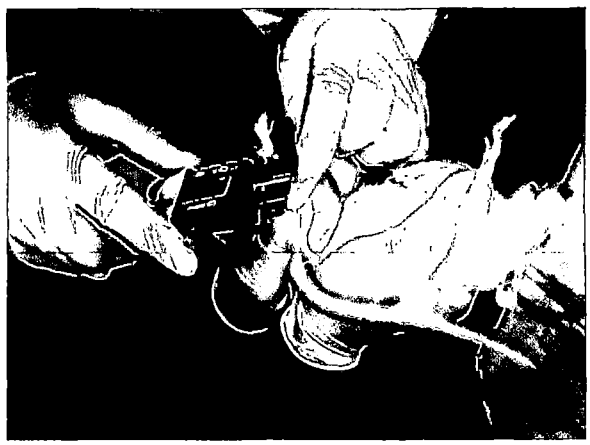


Figura N° 12.- Test del edema subplantar inducido por carragenina

3.2.1.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA CRÓNICA

➢ **TEST DE GRANULOMA INDUCIDO POR CARRAGENINA EN RATAS SEGÚN SEDWICK Y LEES MODIFICADA.** [36], [37], [38], [39].

- **PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:**

El extracto se preparó con una mezcla de etanol, tween 80 y agua destilada en cantidades suficientes hasta su completa disolución.

- **DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA**

1.- Se formaron seis grupos de seis ratas cada uno a los que se les administró por vía oral desde el primer día lo siguiente:

Control Negativo (Vehículo): Agua destilada, alcohol y tween 80

Control Positivo: Dexametasona 2 mg/Kg

Diclofenaco 50 mg/Kg

Extracto Etanólico en dosis de 100 mg/kg

Extracto Etanólico en dosis de 250 mg/kg

Extracto Etanólico en dosis de 500 mg/kg

2.- En el primer día de la experiencia los animales fueron anestesiados y se procedió a rasurar o depilar previamente la zona dorsal y nuca.

3.- El área rasurada o depilada se desinfectó y se procedió a la inyección vía subcutánea de 20 mL de aire.

4.- En el día tres de la experiencia se inyectó nuevamente 10 mL de aire, al cuarto día se inyectó 2 mL de carragenina 1% en la bolsa.

5.- Seis horas después de la inyección fueron sacrificados por administración vía intraperitoneal de pentobarbital 100 mg/kg, previamente inyectando 5 mL de suero fisiológico en la bolsa, procediéndose a la extracción del exudado inflamatorio con una jeringa.

6.- Luego se procedió a realizar un frotis en una lámina portaobjeto y se colocó 2 mL del exudado en tubos de ensayo que se mantuvieron refrigerados.

7.- Ambas muestras fueron analizadas en el Hospital Nacional Dos de Mayo, en donde se determinó los cuerpos formes en el exudado inflamatorio y cantidad de proteínas.

8.- Las unidades de medidas fueron: exudado inflamatorio en volumen (mL); elementos formes en porcentaje (%), proteínas en miligramos (mg).

9.- De éstos datos calculamos el efecto antiinflamatorio tomando como base los diferentes parámetros estudiados.

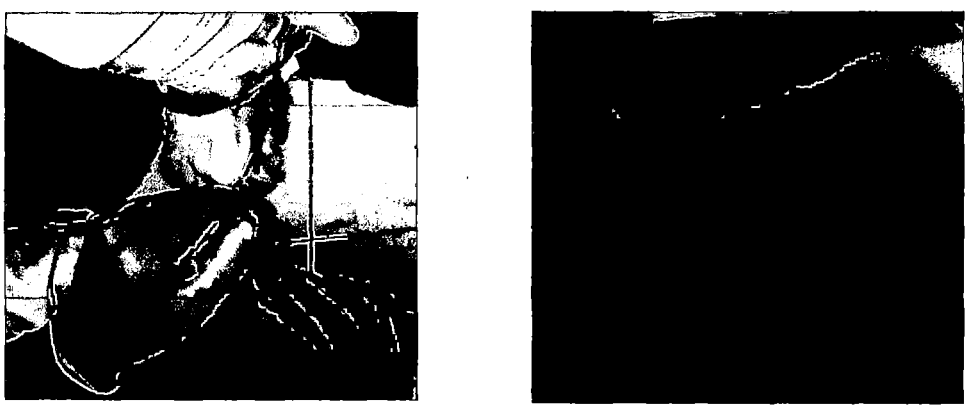


Figura N° 13. Test de granuloma inducido por carragenina

3.3 MÉTODO ESTADÍSTICO. [38]

Se presentan los resultados en tablas y gráficos; los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y a la prueba de Tukey, para comprobar las diferencias entre las medias del tratamiento de ésta experiencia, puesto que el número de repeticiones fue constante, se consideró un valor $p<0,05$ para que los datos sean estadísticamente significativos. Se hizo uso del programa estadístico SPSS versión 14, año 2006.

4.-RESULTADOS

4.1.- Resultados de la evaluación de la actividad antiinflamatoria aguda mediante el test de edema auricular.

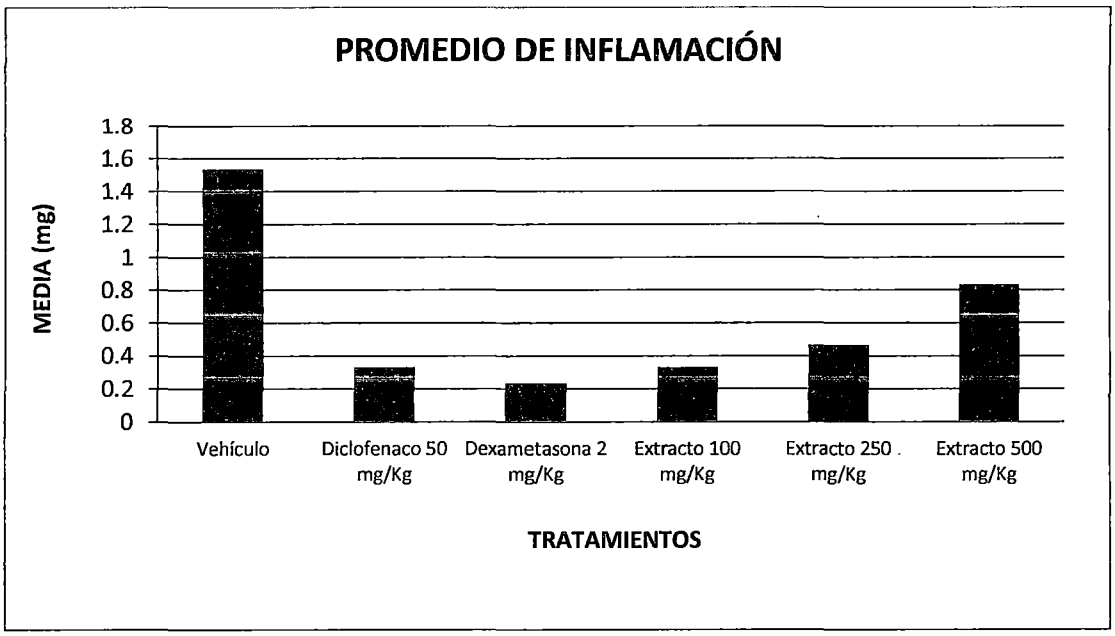
Cuadro No. 01. Media de la diferencia entre los pesos de las orejas inflamadas y no inflamadas de los animales de experimentación según tratamientos evaluados.

Tratamientos	Media (mg)
Vehículo	1,5333
Diclofenaco 50 mg/Kg	,3333
Dexametasona 2mg/Kg	,2333
Extracto 100 mg/Kg	,3333
Extracto 250 mg/Kg	,4667
Extracto 500 mg/Kg	,8333

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Dexametasona 2mg/Kg presenta el menor promedio de inflamación seguida del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto de 100mg/Kg.

Gráfico No. 01. Promedios de inflamación de los tratamientos administrados en el test edema auricular inducido por xileno.



Fuente: Hoja de recolección de datos.

La dexametasona 2 mg/kg, el extracto en dosis de 100 mg/Kg, el diclofenaco 50 mg/kg y el extracto en dosis de 250 mg/Kg presentan el mejor nivel de eficacia , es así como éstos tratamientos se diferencian del nivel de eficacia del extracto en dosis de 500 mg/Kg, y del vehículo quienes presentan menor nivel de eficacia.

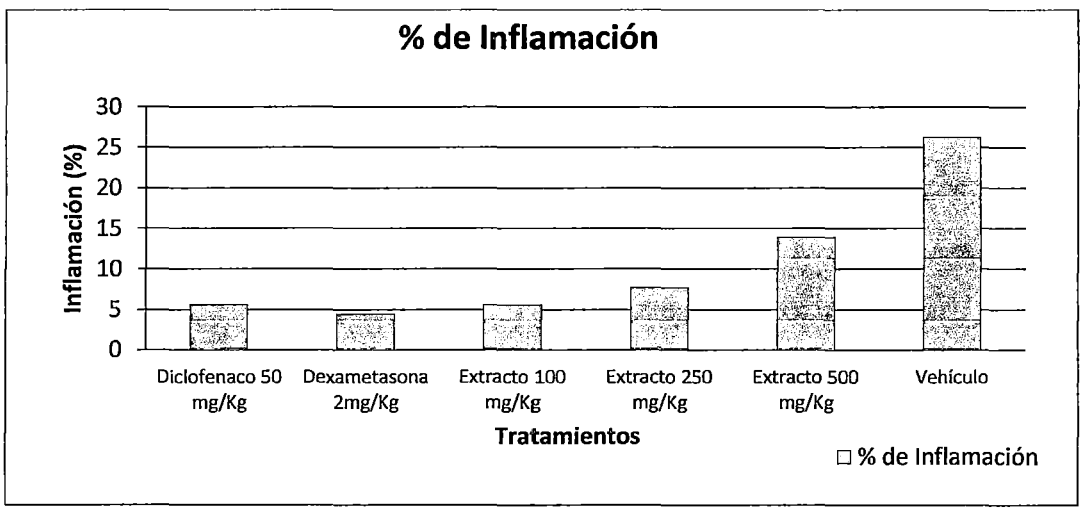
4.1.1.- Porcentaje de inflamación de los tratamientos evaluados en la experimentación mediante edema auricular.

Cuadro No.02. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados.

Tipo de tratamiento	% de Inflamación
Diclofenaco 50 mg/Kg	5,66
Dexametasona 2mg/Kg	4,48
Extracto 100 mg/Kg	5,66
Extracto 250 mg/Kg	7,80
Extracto 500 mg/Kg	14,00
Vehículo	26,32

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 02. Porcentaje de inflamación de los tratamientos administrados en el test edema auricular inducido por xileno.



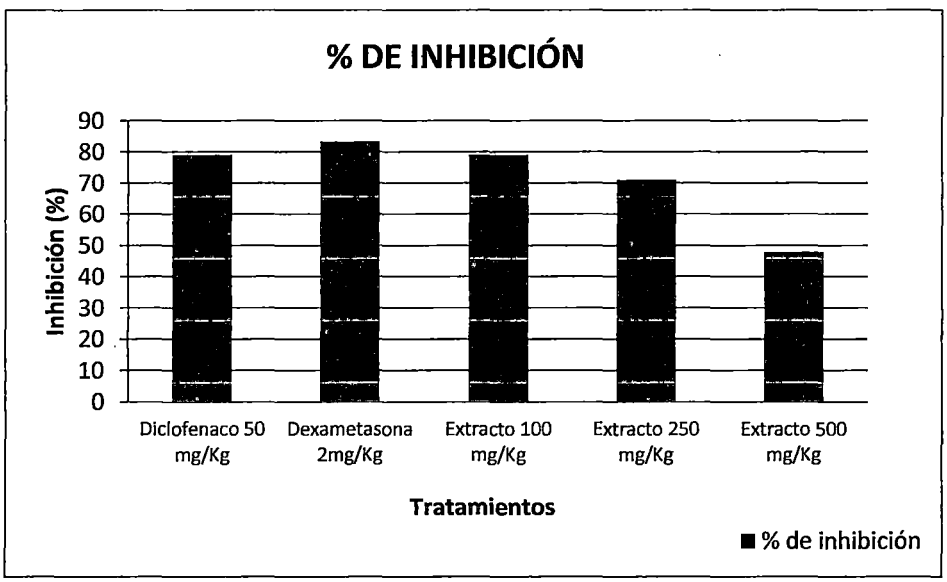
La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg y el extracto en una dosis de100 mg/Kg son los fármacos que presenta menor porcentaje de inflamación.

Cuadro No.03. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados.

Tipo de tratamiento	% de inhibición
Diclofenaco 50 mg/Kg	78,91
Dexametasona 2mg/Kg	83,32
Extracto 100 mg/Kg	78,91
Extracto 250 mg/Kg	70,95
Extracto 500 mg/Kg	47,85
Vehículo	

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 03. Porcentaje de inhibición de los tratamientos administrados en el test edema auricular inducido por xileno.



La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg y el extracto en una dosis de 100 mg/Kg son los fármacos que presenta mayor porcentaje de inhibición.

4.2.- Resultados de la evaluación de la actividad antiinflamatoria aguda mediante el Test de Edema sub-plantar.

Cuadro No. 04. Media de las mediciones al inicio de la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt
Vehículo	4,700	,20000
Diclofenaco 50 mg/Kg	4,533	,35119
Dexametasona 2mg/Kg	4,500	,36056
Extracto 100 mg/Kg	4,900	,26458
Extracto 250 mg/Kg	4,800	,20000
Extracto 500 mg/Kg	4,867	,30551

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Mediciones tomadas antes de iniciar la administración de los tratamientos.

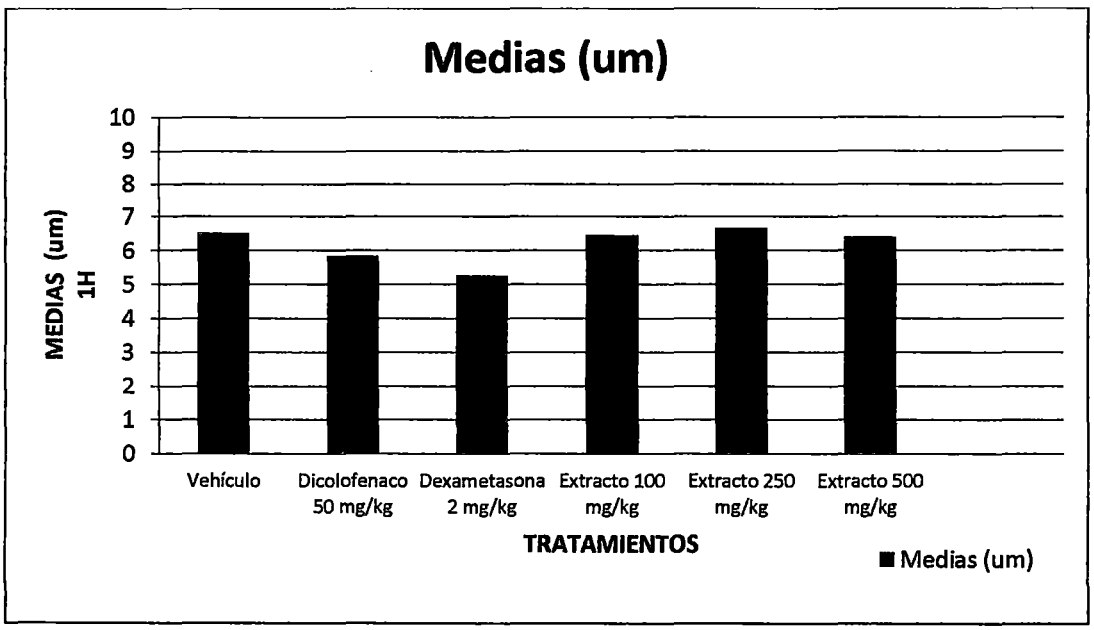
Cuadro No. 05. Media y desviación estándar de las mediciones a la 1era hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt
Vehículo	6,533	,05774
Diclofenaco 50 mg/Kg	5,833	,20817
Dexametasona 2mg/Kg	5,267	,20817
Extracto 100 mg/Kg	6,467	,28868
Extracto 250 mg/Kg	6,667	,25166
Extracto 500 mg/Kg	6,400	,45826

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Los animales de experimentación tratadas con dexametasona 2 mg/Kg presentan el menor promedio de inflamación a la primera hora de iniciada la experimentación seguido del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto 500 mg/Kg.

Gráfico No. 04. Promedios de inflamación de los tratamientos evaluados a la hora de iniciado la experimentación.



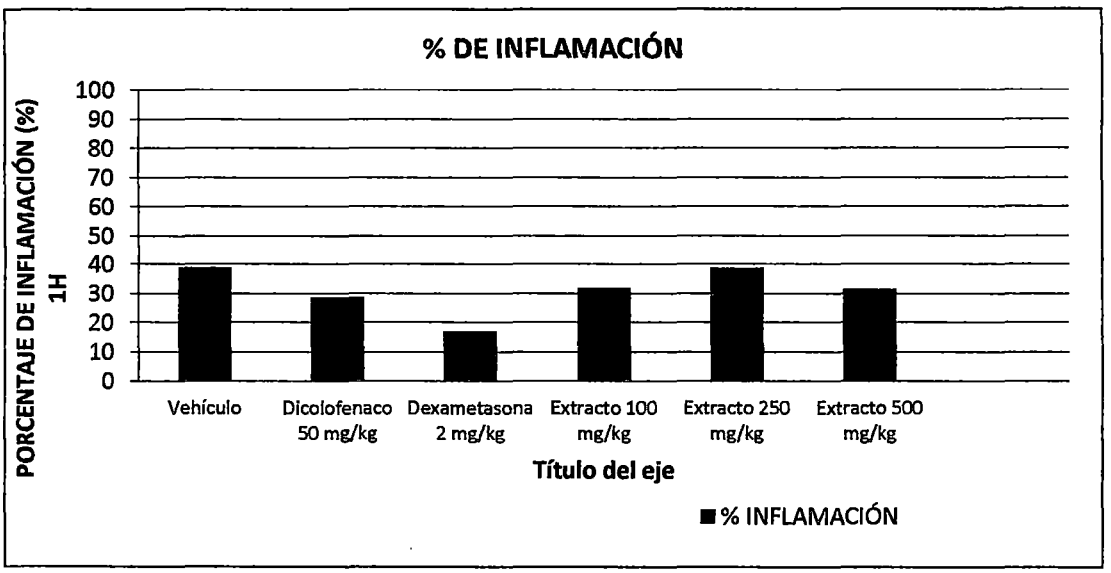
La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg son los fármacos que se diferencian de los demás, mientras que entre los extractos, el administrado en una dosis de 500mg/Kg es el que presentan el mejor nivel de eficacia.

Cuadro No.06. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados a la hora de iniciada la experimentación.

Tipo de tratamiento	% de Inflamación
Diclofenaco 50 mg/Kg	28.68
Dexametasona 2mg/Kg	17.04
Extracto 100 mg/Kg	31.98
Extracto 250 mg/Kg	38.90
Extracto 500 mg/Kg	31.50
Vehículo	39

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 05. Porcentajes de inflamación de los tratamientos administrados en el test edema sub-plantar inducido por carragenina a una hora del tratamiento.



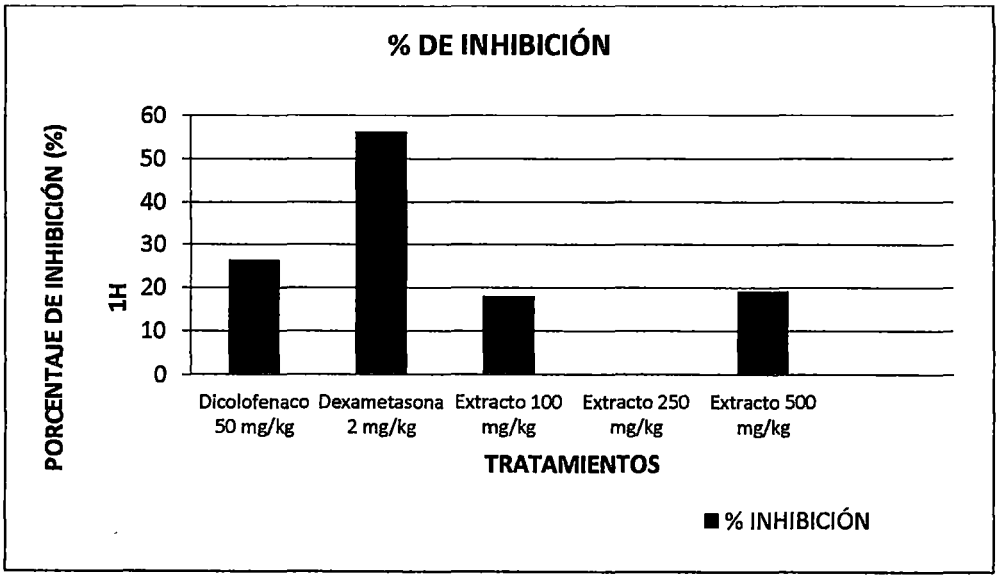
La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg y el extracto de 500 mg/kg presentan menor porcentaje de inflamación comparados a los demás tratamientos.

Cuadro No.07. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados a la hora de iniciada la experimentación.

Tipo de Tratamiento	% de inhibición
Diclofenaco 50 mg/Kg	26.47
Dexametasona 2mg/Kg	56.30
Extracto 100 mg/Kg	18.00
Extracto 250 mg/Kg	0.27
Extracto 500 mg/Kg	19.24
Vehículo	

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 06. Porcentajes de inhibición de los tratamientos administrados en el test edema sub-plantar inducido por carragenina a una hora del tratamiento.



La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg seguido del extracto de 500 mg/kg obtuvieron el mejor porcentaje de inhibición.

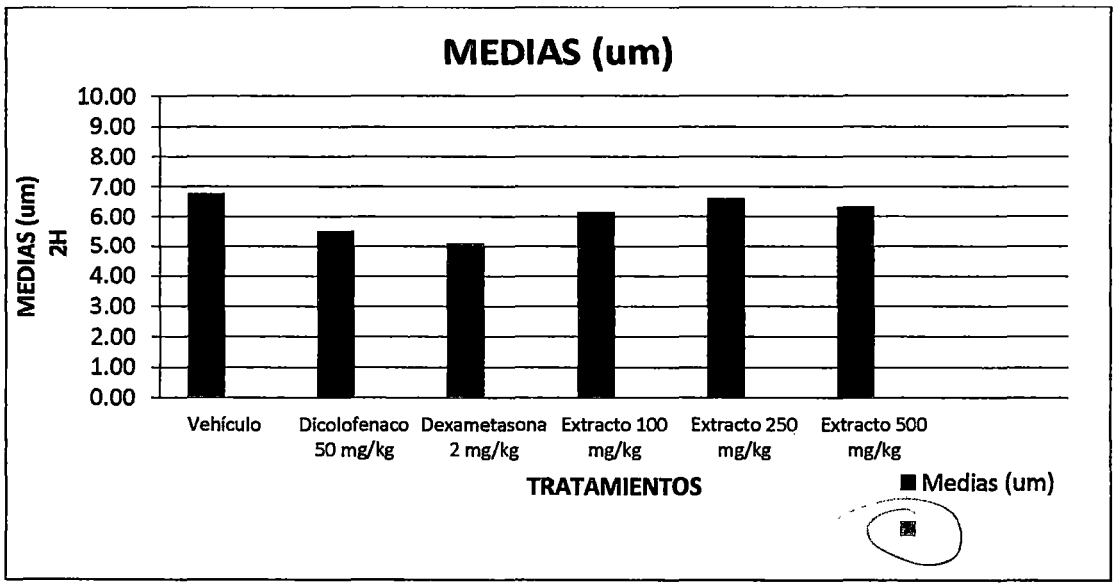
Cuadro No. 08. Media y desviación estándar de las mediciones a la 2da hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt
Vehículo	6,800	,17321
Diclofenaco 50 mg/Kg	5,500	,20000
Dexametasona 2mg/Kg	5,100	,20000
Extracto 100 mg/Kg	6,167	,28868
Extracto 250 mg/Kg	6,600	,20000
Extracto 500 mg/Kg	6,333	,45092

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Las ratas tratadas con dexametasona 2 mg/Kg presentan el menor promedio de inflamación seguido del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto 100 mg/Kg a las 2 horas de iniciada la experimentación.

Gráfico No. 07. Promedios de inflamación de los tratamientos evaluados a la hora de iniciado la experimentación.



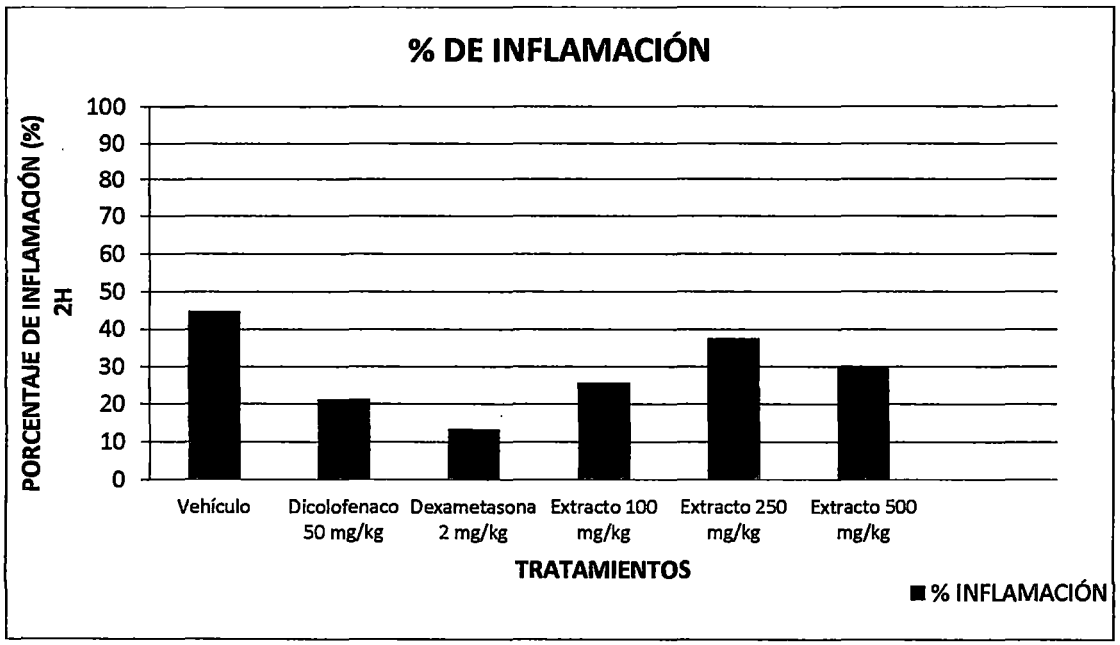
La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg son los fármacos que se diferencian de los demás, mientras que entre los extractos, el administrado en una dosis de 100mg/Kg es el que presentan el mejor nivel de eficacia.

Cuadro No.09. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados a la 2da hora de iniciada la experimentación.

Tipo de tratamiento	% de Inflamación
Diclofenaco 50 mg/Kg	21.33
Dexametasona 2mg/Kg	13.33
Extracto 100 mg/Kg	25.86
Extracto 250 mg/Kg	37.50
Extracto 500 mg/Kg	30.12
Vehículo	44.68

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 08. Porcentajes de inflamación a la segunda hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina.



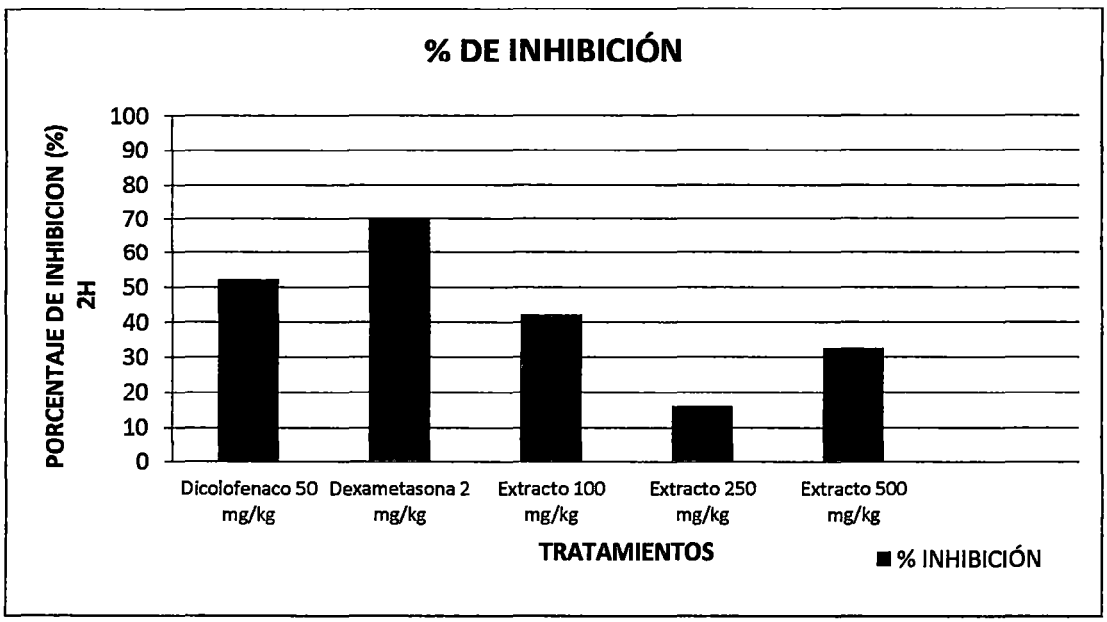
La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg y el extracto de 100 mg/ kg presentan menor inflamación a la segunda hora de administrados los tratamientos.

Cuadro No.10. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados a la 2da hora de iniciada la experimentación.

Tipo de Tratamiento	% de inhibición
Diclofenaco 50 mg/Kg	52.26
Dexametasona 2mg/Kg	70.16
Extracto 100 mg/Kg	42.13
Extracto 250 mg/Kg	16.07
Extracto 500 mg/Kg	32.58
Vehículo	

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 09. Porcentajes de inhibición a la segunda hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina.



La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg, seguido del extracto de 100 mg/kg obtuvieron el mayor nivel de inhibición a la segunda hora de tratamiento.

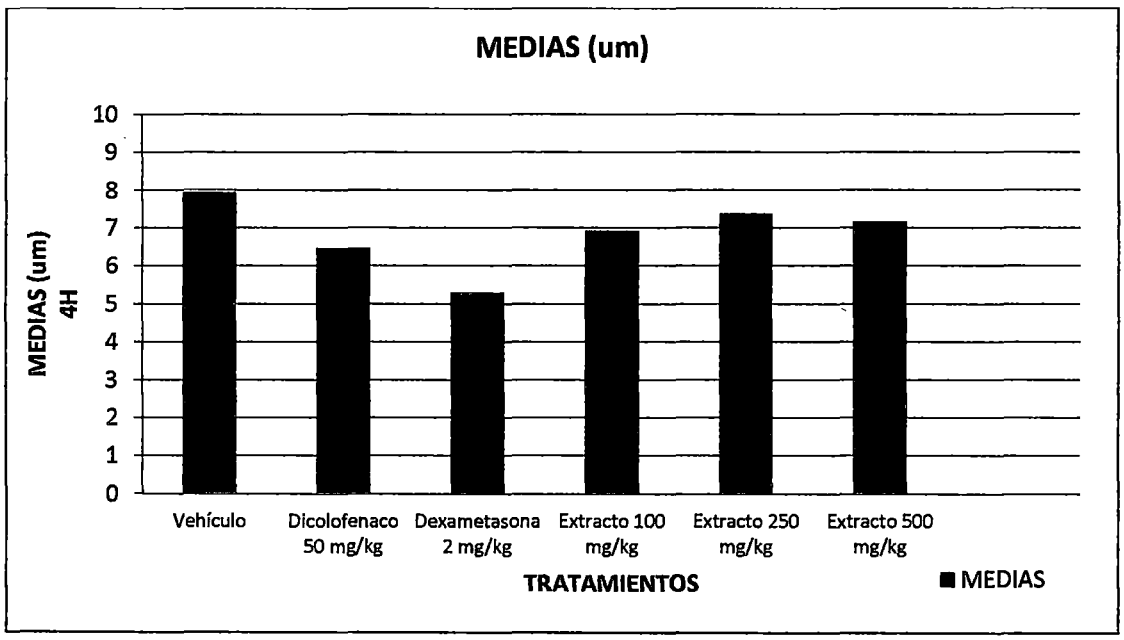
Cuadro No. 11. Media y desviación estándar de las mediciones a la 4ta hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt
Vehículo	7,967	,0577
Diclofenaco 50 mg/Kg	6,167	,3786
Dexametasona 2mg/Kg	5,300	,3606
Extracto 100 mg/Kg	6,933	,2309
Extracto 250 mg/Kg	7,367	,1528
Extracto 500 mg/Kg	7,167	,3786

Fuente :Hoja de recolección de datos

Las ratas tratadas con dexametasona 2 mg/Kg presentan el menor promedio de inflamación seguido del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto 100 mg/Kg a las 4 horas de iniciada la experimentación.

Gráfico No. 10. Promedios de inflamación de los tratamientos evaluados a la cuarta hora de iniciada la experimentación.



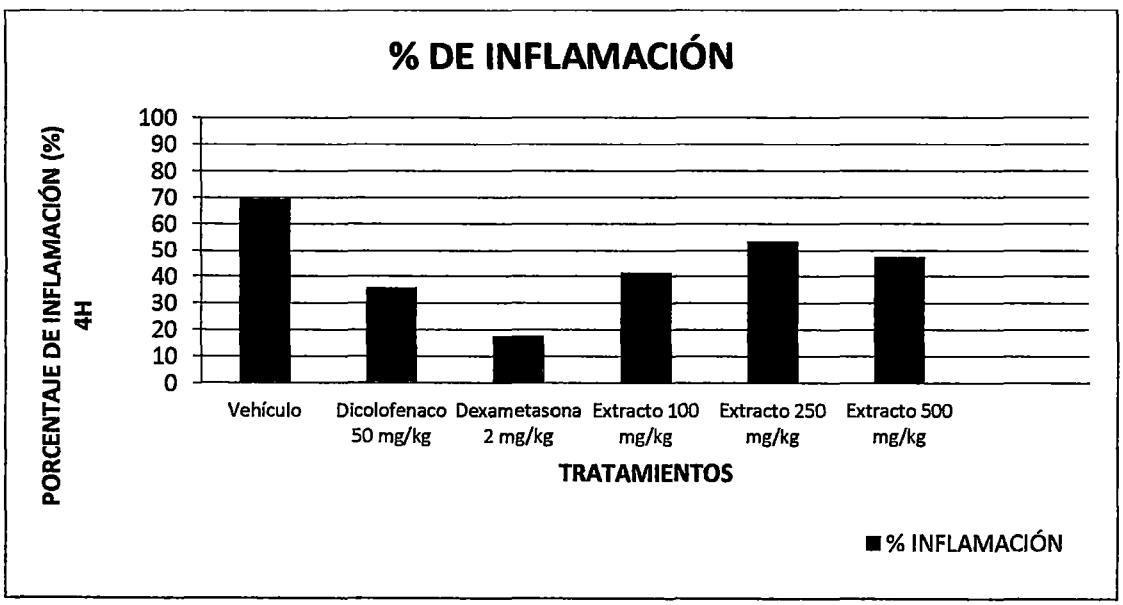
La dexametasona es el fármaco que presenta mejor eficacia que los demás, mientras que entre los extractos, el administrado en una dosis de 100mg/Kg es el que presentan el mejor nivel de eficacia.

Cuadro No.12. Porcentaje de inflamación según los tipos de tratamientos evaluados a la 4ta hora de iniciada la experimentación.

Tipo de tratamiento	% de Inflamación
Diclofenaco 50 mg/Kg	35.66
Dexametasona 2mg/Kg	17.78
Extracto 100 mg/Kg	41.49
Extracto 250 mg/Kg	53.48
Extracto 500 mg/Kg	47.26
Vehículo	69.51

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 11. Porcentajes de inflamación a la cuarta hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina



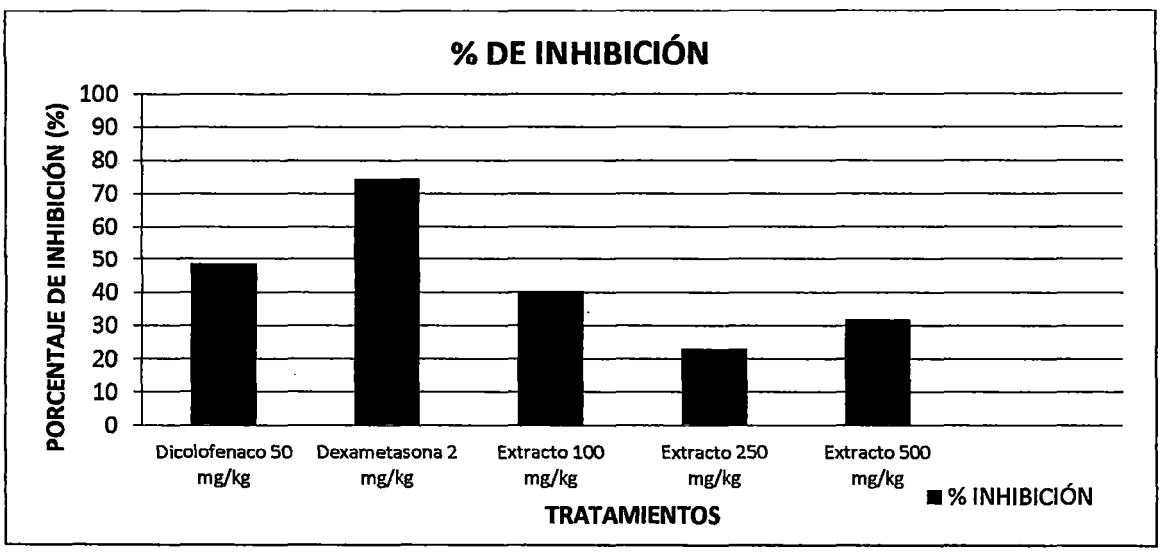
La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg obtuvieron menor inflamación, seguido de los extractos de 100 mg/kg a la cuarta hora de tratamiento.

Cuadro No.13. Porcentaje de inhibición según los tipos de tratamientos evaluados a la 4ta hora de iniciada la experimentación.

Tipo de tratamiento	% de inhibición
Diclofenaco 50 mg/Kg	48.62
Dexametasona 2mg/Kg	74.42
Extracto 100 mg/Kg	40.31
Extracto 250 mg/Kg	23.06
Extracto 500 mg/Kg	32.01
Vehículo	

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico No. 12. Porcentajes de inhibición a la cuarta hora de iniciado el tratamiento en el test edema sub-plantar inducido por carragenina.



La dexametasona 2 mg/kg, el diclofenaco 50 mg/kg seguido del extracto de 100 mg/kg obtuvieron la mayor inhibición de la inflamación a la cuarta hora de iniciado el tratamiento.

4.3 Resultados de la evaluación de la actividad antiinflamatoria crónica mediante el Test del granuloma inducido por carragenina en ratas según Sedwick y Lees modificada.

Cuadro No.14. Tablas ANOVA para los indicadores de la actividad antiinflamatoria crónica.

		Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.	Sig.
Albumina	Inter-grupos	5	1,595,022	,607	,696	
	Intra-grupos	12	2,625,944			
	Total	17				
Células	Inter-grupos	5	253,556	1,214	,360	
	Intra-grupos	12	208,889			
	Total	17				
PMN	Inter-grupos	5	882,189	6,516	,004	
	Intra-grupos	12	135,389			
	Total	17				
MN	Inter-grupos	5	368,989	1,047	,435	
	Intra-grupos	12	352,556			
	Total	17				

Fuente: Hoja de recolección de datos.

PMN: Polimorfonucleares **MN:** Mononucleares

En el cuadro se observa que el p-valor del ANOVA para la comparación de los promedios de las células polimorfonucleares es significativo, es decir, existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de los tratamientos evaluados, lo que hace suponer que al menos uno de los tratamientos es diferente de los demás. Los p-valores de los demás indicadores no presentan significancia, es decir, no hay diferencia significativa al comparar los promedios de los tratamientos evaluados, por lo que se procedió a la aplicación de la

prueba de comparaciones múltiples solo para las mediciones de las células polimorfonucleares.

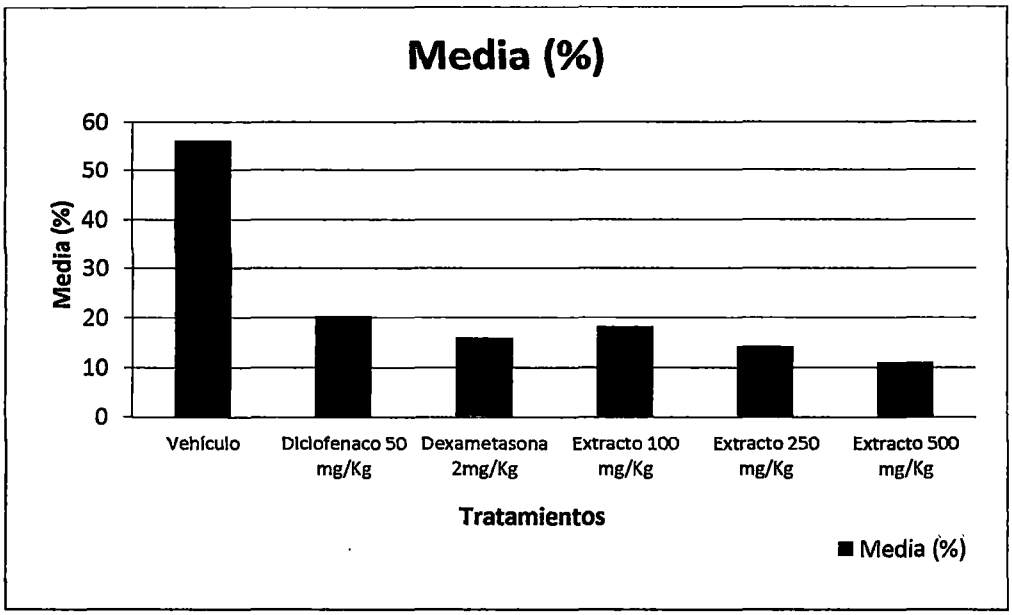
Cuadro No. 15. Media y desviación estándar de las proporciones de PMN según los tipos de tratamiento.

Tipo de tratamiento	Media (%)	Dt
Vehículo	56,3333	15,9478
Diclofenaco 50 mg/Kg	20,3333	10,1159
Dexametasona 2mg/Kg	16,0000	7,9372
Extracto 100 mg/Kg	18,3333	11,9303
Extracto 250 mg/Kg	14,3333	30,550
Extracto 500 mg/Kg	11,0000	10,000

Fuente: Hoja de recolección de datos.

El grupo experimental tratado con extracto a una dosis de 500 mg/Kg presenta el menor porcentaje de células polimorfonucleares presentes en la sangre de los animales de experimentación.

Gráfico No. 13. Porcentaje de células PMN de los tratamientos evaluados en el Test del granuloma inducido por carragenina.



El extracto a una dosis de 500 mg/kg presenta mejor eficacia que los demás en el control de la inflamación, sin embargo la diferencia no es estadísticamente significativa.

DISCUSIÓN

En éste trabajo se evaluó la actividad antiinflamatoria aguda y crónica del alga *Colpomenia sinuosa* para dar sustento, en parte, al uso de ésta especie en la medicina popular para diversos padecimientos, en especial en el tratamiento de la inflamación y como continuidad a los escasos trabajos realizados en la región en torno a ésta alga.

Se sabe que los procesos inflamatorios agudos aumentan la permeabilidad vascular, inducen la migración de leucocitos y la activación de mediadores de la inflamación; asimismo, en la inflamación crónica coexisten el daño tisular y los intentos de reparación. Conociéndose lo anterior se decidió trabajar como agente flogógeno la carragenina, ya que su respuesta es difásica, en la fase inicial el edema producido se relaciona con la producción de histamina, leucotrienos, factor activador de plaquetas y posiblemente, ciclooxigenasa características de la inflamación aguda mientras que la fase tardía induce una respuesta inflamatoria que se ha relacionado a la infiltración, daño tisular y acumulación de macrófagos propio de la inflamación crónica.

La carragenina 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 fase, que se extiende durante la primera hora, intervienen aminas vasoactivas como la histamina y serotonina, mientras que en la segunda fase, comprendida entre 1,5 y 2,5 h, intervienen las cininas. En una fase tardía, desde las 2,5 a las 6 h, son las prostaglandinas PGE1, PGE2 y PGF2 los principales mediadores, es por ello que en el Test del edema sub-plantar inducido por carragenina se evalúa la actividad antiinflamatoria a la 1ra, 2da y 4ta hora después de la administración del agente flogógeno.

La evaluación del extracto del alga *Colpomenia sinuosa* frente a la inflamación crónica, a través del modelo del granuloma inducido por carragenina en ratas, ha evidenciado efecto antiinflamatorio, evaluado mediante los indicadores de la inflamación. Los hallazgos demostraron que el alga Colpomenia sinuosa a sus diferentes dosis presenta un efecto similar al producido por dexametasona y diclofenaco.

Estudios científicos realizados en la Universidad de Valencia mencionan a un compuesto natural de origen marino que proviene de algas pardas como es el caso del alga *Colpomenia sinuosa,* éste compuesto llamado epitaondiol presenta una gran actividad antiinflamatoria muy relacionada con la inhibición

de acumulación de leucocitos, inhibición de la fosfolipasa A2 y con ello la formación y/o liberación de prostaglandinas y leucotrienos que son mediadores químicos de la inflamación junto a otros eicosanoides.[14]

Por lo tanto le atribuimos al epitaondiol como posible responsable del efecto antiinflamatorio del alga *Colpomenia sinuosa, observándose en* los resultados del presente estudio que el extracto etanólico en dosis de 100 mg/kg presenta mayor actividad antiinflamatoria en los ensayos de inflamación aguda y en dosis de 500 mg/Kg para los ensayos de inflamación crónica.

CONCLUSIONES

1. El tratamiento con el extracto a una dosis de 100 mg/Kg presenta mayor eficacia sobre la inflamación aguda mediante el test de Edema auricular al compararla con los demás extractos, sin embargo no existe diferencias estadísticamente significativa al compararlas con la dexametasona y el diclofenaco.

2. El tratamiento con el extracto a una dosis de 100 mg/Kg presenta mayor eficacia sobre la inflamación aguda mediante el test de edema sub-plantar, sin embargo su eficacia es menor al compararlas con la dexametasona y el diclofenaco en la 1ra y 2da y 4ta hora de iniciada la experimentación.

3. El extracto a una dosis de 500 mg/kg presenta incluso mejor eficacia que los fármacos en el control de la inflamación crónica tomando como indicador la presencia de células polimorfonucleares, sin embargo la diferencia con todos los tratamientos evaluados no es estadísticamente significativa

RECOMENDACIONES

1. Continuar la investigación con pruebas biológicas para confirmar su eficacia y otros estudios posteriores a partir de los extractos de *Colpomenia sinuosa*

2. Desarrollar estudios que posibiliten aislar e identificar los metabolitos secundarios de la especie *Colpomenia sinuosa* responsables del efecto antiinflamatorio.

3. Incentivar el estudio de recursos naturales de la región y su aprovechamiento en la elaboración de fórmulas farmacéuticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Menéndez R, Fernández MD, García N. Las algas marinas como fuente de nuevos agentes anti-inflamatorios. Revista electrónica de la Agencia del Medio Ambiente [Revista en Internet] 2010 [Acceso 24 de Octubre de 2013]; Disponible en http://ama.redciencia.cu/articulos/19.06.pdf
2. Gómez H, Gónzales K, Domingo J. Actividad antiinflamatoria de Productos Naturales. Boletin Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [Revista en Internet] 2011 [Acceso 15 de Octubre de 2013]. Disponible en: http://www.redalyc.org/pdf/856/85618379003.pdf
3. Llanio M, Fernández M, Mata y Cabranes Y. ¿Poseen las algas de las costas cubanas propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antioxidantes Instituto de Oceanología. Cuba. 2003.
4. Tejada O. Importancia de las algas marinas. [Acceso 15 de Octubre del 2013]. Disponible en: http://criptogamasalgasmargi.blogspot.com/2007_04_01_archive.html
5. Llanio M, Fernández B, Cabrera B y Aneiros A. Pesquisaje de los efectos antiinflamatorio y/o analgésico en cinco extractos de origen marino. Revista de Fitoterapia 5 supl. 1,166-168, 2005.

6. Galindo R, Canales F, Córdova S, Gallegos M y Martínez I. Evaluación de las actividades antiinflamatoria, analgésica y antioxidante de las algas marinas Colpomenia sinuosa, Gracilariopsis lemaneiformis, Macrocystis pyrifera Y Ulva costata, obtenidas en la región Ica 2010.
7. Bruneton J. Farmacognosia de Plantas Medicinales. 2ª ed. Zaragoza: Acribia S:A.; 2001.
8. Charzeddine L y Fariñas M. Propiedades bioactivas de algas marinas del nororiente de Venezuela. Universidad de Oriente. 2001.
9. M. Feria. Fármacos analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. En: Florez J. Farmacología Humana. 5ª ed. Barcelona: Elsevier; 2008 .p . 421-455.
10. Pérez E, Garrido G, Delgado R. Taller Nacional sobre Inflamación. Sociedad Cubana de Farmacología. Editoral CNIC, Noviembre; 2011. [Acceso 21 de Octubre del 2013). Disponible en : http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=85618379003
11. Muños M. Potencial Farmacológico de algas marinas de baja California Sur, México; La Paz, B. C. S. México; 2010.
12. Lekameera R, Somasundaran T, Sethupathy S, Vijayabaskar Pandian Nephroprotective effects of Colpomenia sinuosa (Derbes & Solier) against carbon tetrachloride induced kidney injury in Wistar rats, Sivakasi 626 124, Tamilnadu, India; 2012.

13. Lekameera. R, Vijayabaskar P, Somasundaram S. Evaluating antioxidant property of brown alga *Colpomenia sinuosa* (DERB. ET SOL). African Journal of Food Science. Vol (2) pp. 126-130, November; 2008.
14. Gil B[1], Ferrándiz ML, Sanz MJ, Terencio MC, Ubeda A, Rovirosa J, San-Martin A, Alcaraz MJ, Payá M. Inhibition of inflammatory responses by epitaondiol and other marine natural products. University of Valencia; Spain; 1995. [Acceso 26 de Noviembre del 2013]. Disponible en: http://europepmc.org/abstract/MED/7603289.
15. Francisco S, Aurelio S. Epitaondiol : The first Policycly Meroditerpenoid Containing two fused Six – Membered Rings forced into the twist- Boat Conformation, Santiago de Chile; 1994. [Acceso 29 de Noviembre del 2013]. Disponible en : http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jo00110a062
16. Acleto C y Zuñiga R. Introducción a las algas. 1999.
17. Manual de Patología General. Capítulo 4 - Inflamación [Acceso 15 de septiembre de 2013] Disponible en: http://escuela.med.puc.cl/publ/patologiageneral/Patol_055.html
18. Rodríguez R. Guía de farmacología y terapéutica. Madrid: Mc Graw – Hill Interamericana; 2007.
19. Organización mundial de la Salud. Estrategia de OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Ginebra: OMS, Departamento de Medicamentos Esenciales y Política Farmacéutica; 2002.

20. Villar M, Villavicencio O. Manual de terapia. EsSalud: Organización Panamericana de la Salud. Lima; 2001

21. Nogues Llort MR, Montull Morer S, Betés de Toro M. Farmacologia para Fisioterapeutas. Madrid: Medica Panamericana S; 2008.

22. Pepper I. Atlas de Inmunología Universidad Nacional de Chile. [Acceso 10 de Septiembre de 2013] Disponible en http://atlas.med.uchile.cl/indice.html

23. Damjanov I. Secretos de la Patología. 3ªed. Barcelona: Elservier; 2010.

24. Burke A, Smith E, Garred. Agentes Analgesicos Antipiréticos y Antiinflamatorios.Farmacoterapia de la Gota. En: Brunton L, Lazo J, Parker K. Las bases Farmacológicas de la terapéutica de Goodman y Gilman. 11ª Ed. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2006.p. 671-716.

25. García R. La Inflamación. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Complutense; España; 2008. [Acceso 17 de Noviembre del 2013]. Disponible en: http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf

26. Kuklinski C, Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ediciones Omega S.A; 2003.

27. Barreiro O, Sánchez F. Bases moleculares de las interacciones leucocito-endotelio durante la respuesta inflamatoria. Revista Española de

Cardiología [Revista en Internet] 2009. [Acceso 15 de septiembre de 2013]. Disponible en: crevespcardiol.org/es/bases-moleculares-las-interacciones-leucocito-endotelio/articulo/13136000/

28. Duran M. Farmacología para Fisioterapeutas. Madrid: Médica Panamericana S:A; 2008.
29. Instituto de investigaciones Farmacéuticas de la Universidad de Costa Rica. Antiinflamatorios no esteroidales. Costa Rica: Centro Nacional de Información de Medicamentos; 2001.
30. Lépori LR, Cohen A. Director. PR vademécum 6° ed. Lima: Científica Propesa; 2005.
31. Vanaclocha B, Cañigueral S. Fitoterapia: vademecun de Prescripción. 4ª ed. Barcelona. Masson; 2003.
32. Bravo Díaz L, Marhuenda Requena E. Manual de Farmacoterapia. 3ªed. Madrid: Elsevier; 2005.
33. Bonkanka Tabares C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal [Tesis Doctoral]. Servicios de Publicaciones, Universidad de la Laguna; 2009.
34. Vidal A, Fallarero A y Silva E. Composición química y actividad antioxidante del alga marina roja *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelin) Howe. Brazilian journal of farmaceutical science vol.42, 2006- 2ª ed. México: Mc Graw Interamericana Editores; 2001.

35. CYTED. Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo; 1995.

36. Arroyo A y Cisneros H. Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica.Lima: Publicaciones ASDIMOR S.A.C; 2012.

37. Gonzáles M, Ospina L, Calle J, Rincón J. Evaluación de extractos y fracciones de plantas Colombianas en modelos de inflamación aguda, subcrónica y crónica. Rev. Colomb.Cienc. Quím.Farm [Revista en internet] 2007. [Acceso 03 de Noviembre del 2013]. Disponible en : http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v36n2a05.pdf.

38. Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de Jungia rugosa Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. An Fac med [revista en internet] 2011 [Acceso 25 de Setiembre de 2013] Disponible en : http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v72n4/a02v72n4.pdf.

39. Athayde-Filho P, Oliveira B. y Moreira M. The Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of Caulerpin, a Bisindole Alkaloid Isolated from Seaweeds of the Genus *Caulerpa.* Mar Drugs. December; 7(4): 689–704. 2009.

5.- ANEXOS

5.1. Evaluación de la actividad antiinflamatoria aguda mediante el test de edema auricular.

Cuadro A. Promedio de los pesos de orejas de las ratas según tratamientos evaluados.

		Prom oreja Inflamada(mg)	Prom oreja No inflamada(mg)
Tratamientos	Vehículo	7,2	5,70
	Diclofenaco 50 mg/Kg	6,2	5,83
	Dexametasona 2mg/Kg	5,6	5,37
	Extracto 100 mg/Kg	6,2	5,83
	Extracto 250 mg/Kg	6,4	5,90
	Extracto 500 mg/Kg	6,8	5,93

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Promedio de los pesos obtenidos de cada grupo en tratamiento, a partir del cual se obtiene las medias de las diferencias entre las orejas inflamadas y no inflamadas (Cuadro N°02).

Cuadro B. Media y desviación estándar de las diferencias de inflamación de las orejas de las ratas según tratamientos evaluados.

	Media (mg)	Dt	IC para la media al 95%	
			Li	Ls
Vehículo	1,5333	,28868	2,2504	,8162
Diclofenaco 50 mg/Kg	,3333	,05774	,4768	,1899
Dexametasona 2mg/Kg	,2333	,05774	,3768	,0899
Extracto 100 mg/Kg	,3333	,05774	,4768	,1899
Extracto 250 mg/Kg	,4667	,11547	,7535	,1798
Extracto 500 mg/Kg	,8333	,05774	,9768	,6899

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Dexametasona 2mg/Kg presenta el menor promedio de inflamación seguida del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto de 100mg/Kg.

Cuadro C. Tabla ANOVA de las diferencias de inflamación de las orejas de las ratas.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,651	5	,730	39,830	,000
Intra-grupos	,220	12	,018		

Fuente: Hoja de recolección de datos.

El p-valor de la prueba ANOVA indica que existe al menos uno de los de promedios de las diferencias que se destaca de las demás.

Cuadro D. Pruebas TUKEY de comparaciones múltiples para las diferencias de inflamación de las orejas de las ratas según tratamientos evaluados distribuidos por subconjuntos homogéneos.

Tipo de tratamiento	Subconjunto para alfa = 0.05		
	1	2	3
Dexametasona 2mg/Kg	,2333		
Extracto 100 mg/Kg	,3333		
Diclofenaco 50 mg/Kg	,3333		
Extracto 250 mg/Kg	,4667	,4667	
Extracto 500 mg/Kg		,8333	
Vehículo			15,333
Sig.	,343	,054	1,000

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Agrupación de los tratamientos evaluados según su similitud de su eficacia

5.2. Resultados de la evaluación de la actividad antiinflamatoria aguda mediante el Test de Edema sub-plantar.

Cuadro E. Media y desviación estándar de las mediciones al inicio de la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt	IC para la media al 95%	
			Li	Ls
Vehículo	4,700	,20000	4,2032	5,197
Diclofenaco 50 mg/Kg	4,533	,35119	3,6609	5,406
Dexametasona 2mg/Kg	4,500	,36056	3,6043	5,396
Extracto 100 mg/Kg	4,900	,26458	4,2428	5,557
Extracto 50 mg/Kg	4,800	,20000	4,3032	5,297
Extracto 500 mg/Kg	4,867	,30551	4,1078	5,626

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Cuadro F. Media y desviación estándar de las mediciones a la 1era hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt	IC para la media al 95%	
			Li	Ls
Vehículo	6,533	,05774	6,389	6,677
Diclofenaco 50 mg/Kg	5,833	,20817	5,316	6,350
Dexametasona 2mg/Kg	5,267	,20817	4,749	5,784
Extracto 100 mg/Kg	6,467	,28868	5,749	7,184
Extracto 250 mg/Kg	6,667	,25166	6,042	7,292
Extracto 500 mg/Kg	6,400	,45826	5,262	7,538

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Las ratas tratadas con dexametasona 2 mg/Kg presentan el menor promedio de inflamación a la primera hora de iniciada la experimentación seguido del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto 500 mg/Kg.

Cuadro G. Tabla ANOVA para los promedios de la inflamación de las patas tratadas de las ratas evaluadas a la primera hora de iniciada la experimentación.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4,336	5	,867	11,649	,000
Intra-grupos	,893	12	,074		

El p-valor de la prueba ANOVA indica que existe al menos uno de los de promedios de la medición a la hora después de iniciados los tratamientos que se destaca de las demás.

Cuadro H. Pruebas TUKEY de comparaciones múltiples de los promedios de la inflamación de las patas tratadas a la hora de iniciada la experimentación distribuidos por subconjuntos homogéneos.

Tipo de tratamiento	Subconjunto 1	2	3
Dexametasona 2mg/Kg	5,267		
Diclofenaco 50 mg/Kg	5,833	5,833	
Extracto 500 mg/Kg		6,400	6,400
Extracto 100 mg/Kg		6,467	6,467
Vehículo		6,533	6,533
Extracto 250 mg/Kg			6,667
Sig.	,186	,072	,830

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Agrupación de los tratamientos evaluados según su similitud de su eficacia

Cuadro I. Media y desviación estándar de las mediciones a la 2da hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt	IC para la media al 95% Li	Ls
Vehículo	6,800	,17321	6,369	7,230
Diclofenaco 50 mg/Kg	5,500	,20000	5,003	5,997
Dexametasona 2mg/Kg	5,100	,20000	4,603	5,597
Extracto 100 mg/Kg	6,167	,28868	5,449	6,884
Extracto 250 mg/Kg	6,600	,20000	6,103	7,097
Extracto 500 mg/Kg	6,333	,45092	5,213	7,454

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Las ratas tratadas con dexametasona 2 mg/Kg presentan el menor promedio de inflamación seguido del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto 100 mg/Kg a las 2 horas de iniciada la experimentación.

Cuadro J. Tabla ANOVA para los promedios de la inflamación de las patas tratadas a la 2da hora de iniciada la experimentación.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6,472	5	1,294	17,785	,000
Intra-grupos	,873	12	,073		

Fuente: Hoja de recolección de datos.

El p-valor de la prueba ANOVA indica que existe al menos uno de los promedios de las mediciones de los tratamientos a la 2da hora que se destaca de las demás.

Cuadro K. Pruebas TUKEY de comparaciones múltiples de promedios de la inflamación de las patas tratadas a la 2da hora de iniciada la experimentación distribuidos por subconjuntos homogéneos.

Tipo de tratamiento	Subconjunto		
	1	2	3
Dexametasona 2mg/Kg	5,100		
Diclofenaco 50 mg/Kg	5,500	5,500	
Extracto 100 mg/Kg		6,167	6,167
Extracto 500 mg/Kg			6,333
Extracto 250 mg/Kg			6,600
Vehículo			6,800
Sig.	,491	,087	,111

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Agrupación de los tratamientos evaluados según su similitud de su eficacia.

Cuadro L. Media y desviación estándar de las mediciones a la 4ta hora de iniciada la experimentación según tratamientos evaluados.

	Media (Um)	Dt	IC para la media al 95%	
			Li	Ls
Vehículo	7,967	,0577	7,823	8,110
Diclofenaco 50 mg/Kg	6,467	,3786	5,526	7,407
Dexametasona 2mg/Kg	5,300	,3606	4,404	6,196
Extracto 100 mg/Kg	6,933	,2309	6,359	7,507
Extracto 250 mg/Kg	7,367	,1528	6,987	7,746
Extracto 500 mg/Kg	7,167	,3786	6,226	8,107

Fuente :Hoja de recolección de datos.

Las ratas tratadas con dexametasona 2 mg/Kg presentan el menor promedio de inflamación seguido del diclofenaco 50 mg/Kg y del extracto 100 mg/Kg a las 4 horas de iniciada la experimentación.

Cuadro M. Tabla ANOVA para los promedios de la inflamación de las patas tratadas a la 4ta hora de iniciada la experimentación.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12,507	5	2,501	30,217	,000
Intra-grupos	,993	12	,083		

Fuente: Hoja de recolección de datos.

El p-valor de la prueba ANOVA indica que existe al menos uno de los de promedios a la 4ta hora de iniciada la experimentación que se destaca de los demás promedios.

Cuadro N. Pruebas TUKEY de comparaciones múltiples de los promedios de la inflamación de las patas tratadas a la 4ta hora de iniciada la experimentación distribuidos por subconjuntos homogéneos.

Tipo de tratamiento	Subconjunto			
	1	2	3	4
Dexametasona 2mg/Kg	53,000			
Diclofenaco 50 mg/Kg		64,667		
Extracto 100 mg/Kg		69,333	69,333	
Extracto 500 mg/Kg		71,667	71,667	
Extracto 250 mg/Kg			73,667	73,667
Vehículo				79,667
Sig.	1,000	,094	,476	,183

Fuente: Hoja de recolección de dato

Agrupación de tratamientos evaluados según su similitud de su eficacia

4.3 Resultados de la evaluación de la actividad antiinflamatoria crónica mediante el Test del granuloma inducido por carragenina en ratas según Sedwick y Lees modificada.

Cuadro O. Media y desviación estándar de las proporciones de PMN según los tipos de tratamiento.

	Media (%)	Dt	IC para la media al 95%	
			Li	Ls
Vehículo	56,3333	15,9478	16,716	95,49
Diclofenaco 50 mg/Kg	20,3333	10,1159	-4,796	45,462
Dexametasona 2mg/Kg	16,0000	7,9372	-3,717	35,717
Extracto 100 mg/Kg	18,3333	11,9303	-11,303	47,970
Extracto 250 mg/Kg	14,3333	30,550	6,744	21,922
Extracto 500 mg/Kg	11,0000	10,000	8,516	13,484

Fuente: Hoja de recolección de datos.

El grupo experimental tratado con extracto a una dosis de 500 mg/Kg presenta el menor porcentaje de células polimorfonucleares presentes en la sangre de los animales de experimentación.

Cuadro P. Tabla ANOVA de las proporciones de células polimorfonucleares en la sangre de los animales de experimentación.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4,410,944	5	882,189	6,516	,004
Intra-grupos	1,624,667	12	135,389		

Fuente: Hoja de recolección de datos.

El p-valor de la prueba ANOVA indica que existe al menos uno de los tratamientos destaca sobre las demás.

Cuadro Q. Promedios de los grupos de subconjuntos homogéneos según los tipos de tratamientos.

Tip_tto	Subconjunto para alfa = 0.05	
	1	2
Extracto 500 mg/Kg	11,0000	
Extracto 250 mg/Kg	14,3333	
Dexametasona 2mg/Kg	16,0000	
Extracto 100 mg/Kg	18,3333	
Diclofenaco 50 mg/Kg	20,3333	
Vehículo		56,3333
Sig.	,842	1,000

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Agrupación de los tratamientos evaluados según su similitud de su eficacia.

RECOLECCIÓN DE DATOS

		OREJA		PATA DERECHA INFLAMADA								
		OREJA NO INF	O.INF	INICIAL	D.1H	D. 2H	D . 4H					
MARCA	Tratamiento	mg	mg	um	um	um	um	P: Totales	Albumina	Celulas	PMN %	MN %
AZUL/ROJO	Vehiculo	5.6	7.0	4.5	6.4	6.8	8.0	3.26	2.01	27	39	63
AZUL/ROJO	vehiculo	5.7	7.4	4.8	6.5	7.1	8.1	2.78	1.54	31	65	37
AZUL/ROJO	Vehiculo	5.9	7.6	4.9	6.5	6.8	8.0	2.45	1.45	20	68	89
AZUL/ROJO	Vehiculo	5.7	6.9	4.5	6.5	6.7	7.9	3.23	2.01	26	38	62
AZUL/ROJO	vehiculo	5.6	7.3	4.9	6.6	7.0	8.0	2.76	1.55	32	64	36
AZUL/ROJO	Vehiculo	5.8	7.5	4.7	6.5	6.7	8.0	2.44	1.43	19	67	88
VERDE	Diclofenaco 50mg/Kg	6.1	6.2	4.3	6.6	5.5	6.3	2.18	1.13	28	15	87
VERDE	Diclofenaco 50mg/Kg	6.0	6.4	4.8	6.1	5.4	7.1	2.66	1.35	44	51	50
VERDE	Diclofenaco 50mg/Kg	5.7	5.8	4.6	5.7	5.8	6.4	2.35	0.99	45	33	66
VERDE	Diclofenaco 50mg/Kg	6.0	6.3	4.2	5.9	5.5	6.2	2.17	1.11	28	14	86
VERDE	Diclofenaco 50mg/Kg	5.9	6.3	4.9	6.0	5.3	6.9	2.65	1.32	43	51	49
VERDE	Diclofenaco 50mg/Kg	5.6	5.9	4.5	5.6	5.7	6.3	2.33	0.99	46	32	68
R/V	Dexametasona 2mg/kg	5.4	5.9	4.7	5.1	5.2	5.5	3.47	1.1	11	9	91
R/V	Dexametasona 2mg/kg	5.5	5.7	4.9	5.5	5.4	5.7	2.68	1.81	14	12	86
R/V	Dexametasona 2mg/kg	5.3	5.4	4.2	5.2	4.9	5.3	2.72	1.76	16	24	76
R/V	Dexametasona 2mg/kg	5.5	5.7	4.6	5.2	5.1	5.4	3.45	1.09	10	10	90
R/V	Dexametasona 2mg/kg	5.4	5.6	4.8	5.5	5.3	5.6	2.66	1.9	13	13	87
R/V	Dexametasona 2mg/kg	5.2	5.5	4.1	5.1	4.9	4.9	2.71	1.76	15	25	75
ROJO	Extracto100 mg/kg	5.9	6.2	4.7	6.3	6.0	6.8	1.87	0.45	63	32	33
ROJO	Extracto 100 mg/kg	5.7	6.0	5.2	6.8	6.5	7.2	3.01	1.98	12	10	90
ROJO	Extracto100 mg/kg	5.9	6.3	4.8	6.3	6.0	6.8	2.81	1.32	10	13	87
ROJO	Extracto 100 mg/kg	6.0	6.2	4.8	6.3	6.1	6.8	1.86	0.46	64	33	34
ROJO	Extracto 100 mg/kg	5.8	6.0	5.1	6.9	6.4	7.3	3.01	1.99	13	10	91
ROJO	Extracto 100 mg/kg	5.8	6.4	4.7	6.3	6.1	6.9	2.81	1.34	9	14	88
AZUL	Extracto 250 mg/kg	5.9	6.3	4.5	6.4	6.5	7.1	2.41	1.22	44	12	86
AZUL	Extracto 250 mg/kg	6.2	6.4	4.9	6.8	6.4	7.3	2.43	1.42	27	15	85
AZUL	Extracto 250 mg/kg	5.7	6.5	5.0	7.0	6.9	7.6	2.05	1.02	37	16	83
AZUL	Extracto 250 mg/kg	5.8	6.2	4.6	6.4	6.4	7.2	2.39	1.21	43	11	87
AZUL	Extracto 250 mg/kg	6.1	6.5	4.8	6.7	6.6	7.4	2.44	1.41	26	15	85
AZUL	Extracto 250 mg/kg	5.8	6.4	5.0	6.9	6.8	7.5	2.03	1.01	38	17	83
NEGRO	Extracto 500 mg/kg	5.9	6.8	4.8	6.0	5.9	6.9	3.12	1.95	18	12	88
NEGRO	Extracto 500 mg/kg	5.8	6.7	4.9	6.0	6.0	6.8	3.13	1.94	17	12	87
NEGRO	Extracto 500 mg/kg	6.1	6.7	4.7	6.2	6.2	7.1	2.46	1.14	42	12	88
NEGRO	Extracto 500 mg/kg	5.7	6.8	5.3	6.8	6.9	7.7	2.65	1.19	32	11	91
NEGRO	Extracto 500 mg/kg	6.0	6.8	4.6	6.3	6.3	7.0	2.45	1.13	41	11	89
NEGRO	Extracto 500 mg/kg	5.9	6.7	5.2	6.9	6.8	7.6	2.66	1.21	31	10	90