



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

CARRERA DE BIOLOGIA

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA
DE Annona reticulata.

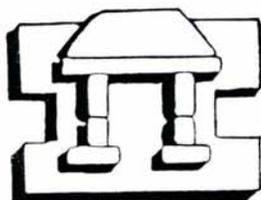
T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
GUILLERMINA CASAS GARCIA

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. DAVID SEGURA COBOS

FARMACOLOGIA, UIICSE

FES IZTACALA, UNAM



IZTACALA

TLALNEPANTLA, ESTADO DE MEXICO

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
CARRERA DE BIOLOGIA

**ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA
DE *Annona reticulata*.**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BIÓLOGA PRESENTA

GUILLERMINA CASAS GARCÍA

DIRECTOR DE TESIS:

*M. en C. DAVID SEGURA COBOS.
FARMACOLOGIA, UIICSE
FES IZTACALA, UNAM*

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Farmacología, del Proyecto de Investigación en Productos Naturales de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria para las Ciencias de la Salud y Educación de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, bajo la dirección de el M. en C. David Segura Cobos, a quien agradezco su asesoría.

AGRADECIMIENTOS

A MIS REVISORES DE TESIS: M. EN C. MARTHA SALCEDO
ÁLVAREZ, M. EN C. MA. DEL ROCÍO BAUTISTA PÉREZ, BIOL.
SOLEDAD CHINO VARGAS, BIOL. EDITH LÓPEZ VILLAFRANCO,
POR LAS SUGERENCIAS PARA LA REALIZACIÓN DE LA TESIS.

AL M. EN C. DAVID SEGURA COBOS POR HABERME ACEPTADO
EN EL LABORATORIO.

A LA DRA. BEATRIZ VÁZQUEZ CRUZ POR LOS CONSEJOS
RECIBIDOS PARA LA REALIZACIÓN DE LA TESIS.

A LA UNAM POR HABERME ABIERTO SUS PUERTAS, Y HABER
PERMITIDO LLEGAR HASTA ESTE MOMENTO.

A MIS PROFESORES QUE A LO LARGO DE MI VIDA SIEMPRE
ESTUVIERON LLENANDOME DE SUS CONOCIMIENTOS.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE ALGUNA MANERA
PARTICIPARON PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA TESIS.

ESTA TESIS LA DEDICO:

A DIOS POR DARMEL DON DE VIVIR Y LLEGAR HASTA AQUÍ.

A MI MADRE

JOSEFINA GARCÍA URIBE. POR DARMEL LA VIDA, PORQUE SIEMPRE HA ESTADO PRESENTE EN CADA PASO DE ELLA, EN LOS MOMENTOS MÁS DIFÍCILES, EN TRISTEZAS Y ALEGRÍAS. GRACIAS POR TUS CONSEJOS, TU APOYO, TU CARIÑO Y TU AMOR QUE SIEMPRE ME HAS BRINDADO, Y SOBRE TODO POR AGUANTARME TANTO. GRACIAS POR SER MI MADRE. TE QUIERO MUCHO.

A MI PADRE

LEÓN CASAS ROJAS. POR SU APOYO, SU CARIÑO Y SU AMOR. GRACIAS POR ESTAR CONMIGO. TE QUIERO MUCHO.

A MIS HERMANAS:

SILVIA. POR SER LA OTRA PARTE DE MI VIDA.

MA. ANTONIETA. POR SU APOYO Y SU CARIÑO.

MA. DE LOS ANGELES. POR SUS CONSEJOS Y SU CARIÑO.

ANA MARÍA. POR SU AMOR Y SU CARIÑO.

A MIS SOBRINOS:

FLOR IVONNE.
LUIS ALFREDO.
LAURA.
ALBERTO.
OSCAR.

A MIS CUÑADOS:

MARTÍN.
JAIME.
GUADALUPE.

A MI TÍA:

MARÍA. POR SU APOYO Y CARIÑO.

A MIS PRIMOS:

ALEJANDRO. POR ENSEÑARME A SER HUMILDE.

DANIEL POR ENSEÑARME LO BUENO Y LO MALO DE LA VIDA.

A LAS PERSONAS QUE SE ADELANTARON EN EL CAMINO, PERO QUE SIEMPRE ESTARÁN EN MÍ CORAZÓN:

A MI ABUELITA LUCÍA. POR DARME A LA MEJOR MADRE DEL MUNDO, POR SU AMOR, SU CARIÑO Y SUS BENDICIONES.

A MI ABUELITO JERÓNIMO. POR SU CARIÑO.

A MI AMIGO RENE. POR SU AMISTAD TAN SINCERA.

A LA SRA. FELICITAS. POR SU CARIÑO DESINTERESADO.

A MIS AMIGOS:

MA. ELENA MARTÍNEZ JUÁREZ. POR ESTAR CONMIGO A LO LARGO DE LA CARRERA, Y COMPARTIR TANTAS COSAS. GRACIAS POR TU CARIÑO Y TU AMISTAD.

YOLANDA POZOS RUIZ. POR LA CONFIANZA DEPOSITADA EN MÍ. GRACIAS POR TU AMISTAD.

MA. DE LOURDES TÉLLEZ CALDERON. POR ENSEÑARME TANTAS COSAS DE LA VIDA. GRACIAS POR TU SINCERIDAD.

OSCAR HERNÁNDEZ MEZA. POR APOYARME CUANDO MÁS LO NECESITE. GRACIAS POR TU CARIÑO.

JULIO CÉSAR OCAMPO SÁNCHEZ. POR SER ALGUIEN IMPORTANTE EN MI VIDA QUE JAMÁS OLVIDARÉ. GRACIAS POR TANTOS MOMENTOS HERMOSOS.

JULIO CORDERO GARCÍA. POR SU APOYO Y SU COMPRENSIÓN.

ALEJANDRO FRAGOSO. POR SU CARIÑO. GRACIAS POR SER MI AMIGO.

HIPÓLITO VENEGAS VARGAS. POR DARME ÁNIMOS SIEMPRE. GRACIAS POR TUS CONSEJOS, TU CONFIANZA Y TU AMISTAD.

RAÚL QUINTERO RODRÍGUEZ. POR SU APOYO Y CARIÑO. GRACIAS POR TU AMISTAD.

ANDRES. POR SER UN AMIGO SINCERO. GRACIAS POR TU CARIÑO.

JUAN. POR SU CARIÑO. GRACIAS POR TU APOYO, TU COMPRENSIÓN Y TU SINCERIDAD.

ISRAEL. POR SU CARIÑO, SU AMISTAD Y POR TODO EL APOYO QUE SIEMPRE ME HA DADO. GRACIAS POR SER MI AMIGO.

A UNA PERSONA MUY ESPECIAL.

GREGORIO GONZÁLEZ ÁLVAREZ. POR SU CARIÑO TAN SINCERO. GRACIAS POR ESTAR CONMIGO EN TODO MOMENTO Y POR TODO LO QUE HEMOS PASADO JUNTOS EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS.

A LA C. D. ZITA FLORES CARRANZA. POR SU APOYO DESINTERESADO Y SINCERO.

A MARÍA DEL CARMEN ALBARRAN FRANCO. POR SUS CONSEJOS Y SU CARIÑO.

A LA FAMILIA RUBIO ROBLES. POR PERMITIRME ENTRAR EN SU HOGAR.

A LA FAMILIA LIZARDI CORTE. POR EL APOYO QUE SIEMPRE ME HAN BRINDADO.

A EL PROFESOR MARCIAL GARCÍA PINEDA. POR ENSEÑARME A VER LA VIDA DE OTRA FORMA.

POR ÚLTIMO A LA PERSONA QUE SIEMPRE ME APOYO EN TODO MOMENTO, TANTO EN LO PROFESIONAL COMO EN LO SENTIMENTAL, GRACIAS POR SER UN HOMBRE CARIÑOSO Y SINCERO, QUE SIEMPRE ME ALENTÓ CUANDO MÁS LO NECESITE Y SOBRE TODO PORQUE EN MI CORAZÓN ESTA UN LUGAR MUY ESPECIAL PARA ÉL GRACIAS POR ESTAR CONMIGO SIEMPRE. M. EN C. DAVID SEGURA COBOS.

SEÑOR, A VECES PONGO MI
META EN LAS ESTRELLAS, O EN
INALCANZABLES Y LOCAS
VELEIDADES.

TU DAS NUEVO SENTIDO A
CADA UNO DE MIS PASOS.
NO DEJES QUE DESVÍE MIS
PIES DEL BUEN CAMINO.
DAME EL BUEN SENTIDO DE
TRAZAR UNA SENDA QUE LLEVE
A UNA META DONDE PUEDA
LLEGAR A TÍ Y VIVIR CONTIGO
PARA SIEMPRE.

INDICE.

LISTA DE ABREVIATURAS.....	IZT.	i
RESUMEN.....		ii
INTRODUCCIÓN.....		1
EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO.....		2
LA QUIMIOTAXIS DE LEUCOCITOS.....		6
LAS CITOCINAS Y SU MECANISMO DE ACCIÓN.....		8
LAS MOLÉCULAS DE ADHESIÓN VASCULAR.....		10
FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS.....		15
MEDICINA TRADICIONAL.....		17
INFORMACIÓN TAXONÓMICA.....		18
DISTRIBUCIÓN.....		19
CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.....		19
USO MEDICINAL.....		20
OTROS USOS.....		21
FITOQUÍMICA.....		22
FARMACOLOGÍA.....		22
TOXICIDAD.....		23
ÁREA DE RECOLECTA.....		23
ANTECEDENTES.....		25
JUSTIFICACIÓN.....		25
OBJETIVOS.....		25
MATERIAL Y MÉTODOS.....		27
TRABAJO DE CAMPO.....		27
TRABAJO DE LABORATORIO.....		28
RESULTADOS.....		35
DISCUSIÓN.....		43
CONCLUSIONES.....		45
BIBLIOGRAFÍA.....		46

XIX. LISTA DE ABREVIATURAS.

- BCG (Bacilo Calmette-Guérin). Vacuna de la tuberculosis.
- COX prostaglandina sintetasa. Ciclooxigenasa, prostaglandina sintetasa.
- CNTF. (Ciliary neurotrophic factor). Factor neurotrófico ciliar.
- EGF. (Epidermal growth factor). Factor de crecimiento epidérmico.
- FMLP. N-formil-metionil-leucil-fenilalanina.
- GMCSF. Factor estimulante de las colonias de granulocitos-macrófagos.
- IFN. Interferón.
- IL. Interleucina.
- LIF. (Leukemia inhibitory factor). Factor inhibidor de la leucemia.
- MAC. (Membrane attack complex). Complejo de ataque a la membrana.
- MAP cinasas. Cinasas de proteínas activadas por mitógeno.
- MCP-1 (Monocyte-chemoattractant-protein 1). Proteína 1 quimioatrayente de monocitos.
- MIP-1 (Macrophage inflammatory protein-1). Proteína 1 inflamatoria de los macrófagos.
- OSM. Oncostatina M.
- PAF. Factor activador de plaquetas.
- PDGF. (Platelet-derived growth factor). Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
- PECAM-1 (Platelet endothelial cell adhesion molecule). Moléculas de adhesión de las células endoteliales y plaquetas.
- RANTES (Regulated on activation, normal T cell expresed and secreted). Quimiocina regulada en la activación, expresada y secretada por células T normales.
- TNF. Factor de necrosis tumoral.

RESUMEN.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE *Annona reticulata*.

Annona reticulata se utiliza en el tratamiento de padecimientos inflamatorios en México; sin embargo, no existen evidencias farmacológicas que validen su uso medicinal. Por lo cual, decidimos corroborar la actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto acuoso de esta planta. Para ello las hojas de *A. reticulata* se colectaron en Cerro Azul, Ver.. La planta se extrajo con agua a ebullición. Se emplearon ratas Wistar, machos, de 200 a 250 g de peso y ratones machos de la cepa CD1, de 20-25 g de peso. Se probó el efecto de los extractos (200 y 300 mg/kg, v.o.) en los modelos de inflamación aguda: formación de edema con carragenina (1 mg) en las extremidades posteriores de las ratas y la migración de neutrófilos a la cavidad peritoneal irritada con carragenina (300 µg/3 ml) de las ratas. Se probó el efecto analgésico del extracto acuoso de las hojas del árbol en las contorsiones abdominales inducidas con ácido acético (60 mg/kg, i.p.) a ratones durante 20 min. *A. reticulata* (300 mg/kg) inhibió la formación del edema en un 41% ($296 \pm 62 \mu\text{l}$) (control: $499 \pm 55 \mu\text{l}$, indometacina (IND) 10 mg/kg: $87 \pm 20 \mu\text{l}$); redujo la migración celular en un 54% ($7,206 \pm 1,266$ neutrófilos (NEUT)/ mm^3) (control: $15,700 \pm 934$ NEUT/ mm^3 ; dexametasona 1 mg/kg: $4,400 \pm 150$ NEUT/ mm^3); y redujo el número de contorsiones (CONT) en 63% (13 ± 3 CONT) (control: 36 ± 2 CONT; IND 10 mg/kg: 7 ± 2 CONT). El extracto acuoso administrado a ratones en dosis de 3 y 5 g/kg (i.p.) no mostró efectos tóxicos agudos. Nuestros resultados corroboran el uso que se le da a *A. reticulata* en la medicina tradicional en el tratamiento de padecimientos que involucran procesos inflamatorios.

INTRODUCCIÓN.

La reacción inflamatoria.

Es la respuesta del organismo al daño producido por agentes físicos, químicos o biológicos, generalmente es beneficiosa, puesto que su evolución habitual es a la destrucción del agente nocivo y del tejido dañado, y a la reparación del daño. Se realiza a través de mecanismos celulares y moleculares redundantes. La importancia de la reacción inflamatoria en patología se justifica porque en casi dos tercios de la totalidad de las enfermedades intervienen los mecanismos patogénicos propios de la respuesta inflamatoria (Cotran y col., 1995).

Elementos que intervienen en la reacción inflamatoria

- i) El plasma sanguíneo aporta los anticuerpos y las proteínas de los sistemas de activación: coagulación, complemento, cininas y fibrinolítico.
- ii) El endotelio vascular aporta moléculas que regulan la reactividad vascular y el intercambio de plasma y elementos celulares de la sangre. Asimismo, es capaz de expresar en su superficie las moléculas de adhesión responsables de los patrones de reclutamiento de los elementos celulares al intersticio celular.
- iii) Las células sanguíneas, principalmente entrada de leucocitos polimorfonucleares al sitio de la lesión.
- iv) Las células del tejido conectivo: fibroblastos, mastocitos y macrófagos (Cotran y col., 1995).

Los sistemas de activación en la reacción inflamatoria

Los sistemas de activación son un conjunto de proteínas, coordinadas en sus funciones, que se encuentran en el plasma y funcionan de acuerdo con unas propiedades funcionales comunes: secuencia de activación definida, activación rápida y amplificación. Por su importancia en la reacción inflamatoria deben mencionarse:

- i) El sistema de la coagulación que se encarga de bloquear los vasos eferentes del foco inflamatorio para evitar la difusión del agente nocivo.

- ii) El sistema fibrinolítico que se encarga de repermeabilizar los vasos, una vez pasado el episodio inflamatorio.
- iii) El sistema de las cininas que se encarga de aumentar la luz vascular para aumentar el aporte sanguíneo y de contraer el músculo liso para evitar la difusión del agente pro-inflamatorio.
- iv) El sistema del complemento que se encarga de destruir agentes patógenos y células infectadas (Cotran y col., 1995).

EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El complemento constituye un componente integral de la defensa frente a la infección y de la respuesta inflamatoria. Las actividades generadas para su utilización en ambos procesos, se derivan de proteínas precursoras y de la fusión de múltiples proteínas en una organización supramolecular. Estas proteínas son en muchos casos serina-proteasas que se activan por proteólisis de forma secuencial (McCance y Huether, 1998).

El sistema se compone de unas treinta proteínas plasmáticas. Además, existen varios receptores de membrana expresados en las superficies celulares de células del sistema inmuno-inflamatorio encargadas de ligar de forma selectiva los productos generados durante la activación del sistema del complemento. El sistema se completa con una serie de proteínas reguladoras que protegen a las células del ataque por activación accidental del sistema del complemento (McCance y Huether, 1998).

El papel del sistema del complemento en la defensa frente a la infección se ha hecho evidente a partir de distintas fuentes de información:

- i) La existencia de infecciones recurrentes y severas en los individuos con deficiencias genéticas de proteínas del complemento.
- ii) La demostración de que el daño tisular es dependiente de la activación del sistema del complemento en modelos experimentales de daño tisular por mecanismo inmune.
- iii) Los estudios funcionales en animales con destrucción selectiva de genes que codifican receptores para proteínas del complemento mediante técnicas de biología molecular.

El sistema del complemento está organizado en dos vías de activación que conducen a una vía común de ataque a la membrana: La llamada vía clásica se activa por complejos antígeno-anticuerpo y la vía alternativa se activa cuando un componente activado del complemento (C3b) se une a la superficie de un patógeno, donde escapa a la acción de las moléculas reguladoras (McCance y Huether, 1998).

La vía clásica de activación del complemento

La vía clásica se pone en marcha cuando una molécula de C1 se une a un complejo antígeno anticuerpo. El C1 es un complejo de una subunidad de C1q, dos subunidades de C1r y dos subunidades de C1s.

El C1q tiene seis sitios de unión para la porción Fc de la molécula de anticuerpo. La afinidad de una subunidad aislada de C1q para cada porción Fc es baja, de tal manera que se requieren al menos dos sitios para la unión estable de C1q y la consiguiente activación de C1r.

Por esta razón se requieren dos moléculas de IgG yuxtapuestas o una molécula de IgM modificada, de tal manera que la IgG y la IgM libres no activan el complemento.

El C1r activado hidroliza al C1s para generar la proteasas activa C1s, que a su vez hidroliza C4 para formar C4a y C4b, y después que el C2 se ha unido al C4b, se genera C4bC2a: la C3-convertasa de la vía clásica (McCance y Huether, 1998).

La vía alternativa del complemento

La vía alternativa depende de la generación de C3 activado. Posteriormente, el ataque espontáneo por el agua del enlace éster-tiol del C3 en solución, genera una forma activa: C3(H₂O), que es equivalente al C3b (McCance y Huether, 1998).

Este proceso ocurre de manera constitutiva a un ritmo lento (C3 tickover). El C3b puede ser también proporcionado por la vía clásica, de tal manera que la vía alternativa es un mecanismo positivo de autorregulación, incluso cuando existe una activación prototípica de la vía clásica por complejos inmunes.

El enlace éster-tiol activado normalmente decae en solución, sin embargo, cuando se une a una superficie celular o a los complejos inmunes recluta

secuencialmente a los factores B y D para generar la convertasa de la vía alternativa: C3bBb.

Este complejo es de corta duración, pero puede estabilizarse en algunas superficies microbianas mediante la unión de otra proteína sérica: la properdina.

Los efectos biológicos de la activación del complemento son:

i) Oponización. El C3b y, en menor grado, el C4b son opsoninas, es decir, revisten a las partículas extrañas para que puedan ser fagocitadas mediante la unión a receptores específicos del complemento.

ii) Inflamación. Las anafilatoxinas C5a, y en menor medida, C4a y C3a son verdaderos mediadores inflamatorios que producen aumento de la permeabilidad vascular, reclutamiento y activación de fagocitos.

iii) Lisis. El C5b une y recluta C6 y C7 a la superficie blanco. C7 y, subsiguientemente, C8 cambian su conformación para exponer los dominios hidrofóbicos e insertarlos en la bicapa lipídica (McCance y Huether, 1998).

El complejo C5b678 cataliza la polimerización del componente final C9, el cual forma un poro transmembrana de, aproximadamente, 10 nm de diámetro y produce la lisis de la célula.

Este complejo macromolecular se conoce con el nombre de complejo de ataque a la membrana (membrane attack complex, MAC).

iv) Aclaramiento de complejos inmunes. El complemento tiene un importante papel en la solubilización y la remoción de la circulación de los complejos inmunes.

Esta función se efectúa por la interacción de las moléculas de C4b y C3b unidas covalentemente al complejo inmune con los receptores de complemento expresados en los hematíes, denominados CR1.

Esta interacción permite transportar los complejos al hígado y al bazo para que sean eliminados por fagocitosis por las células del sistema mononuclear fagocitario presentes en esos órganos (McCance y Huether, 1998).

Mediadores de la reacción inflamatoria

Son moléculas liberadas en el foco inflamatorio que presentan las siguientes características:

- i) Actúan en un entorno local intermedio entre el de las hormonas y el de los neurotransmisores.
- ii) Intervienen en la comunicación celular al ser liberadas por células y actúan sobre otros tipos celulares a través de receptores específicos.
- iii) En su espectro de acciones biológicas destacan dos características: la pleiotropía y la redundancia.

Sobre esta base, un mediador puede actuar sobre distintos blancos y ejercer sobre ellos diversos efectos (pleiotropía), por otra parte, distintos mediadores pueden ejercer el mismo efecto en el mismo blanco celular (redundancia).

LA QUIMIOTAXIS DE LEUCOCITOS

El término quimiotaxis indica el movimiento de los leucocitos (o de las células en general) inducido por un agente químico de manera estimulada y directa. Además de la quimiotaxis, los leucocitos tienen otros tipos de movimiento.

El movimiento espontáneo y carente de dirección recibe el nombre de migración al azar, mientras que el movimiento inducido, y carente de dirección se denomina quimiocinesis.

El estímulo quimiotáctico es proporcionado por sustancias que pueden atraer o repulsar a las células, de tal manera que el movimiento quimiotáctico puede ser positivo o negativo.

El movimiento positivo es característico de los leucocitos. Las sustancias que poseen actividad quimiotáctica se denominan factores quimiotácticos o quimioatrayentes y pueden ser exógenos o endógenos.

Entre los exógenos merecen especial mención productos de origen bacteriano: oligopéptidos formilados del tipo N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP), lectinas y lipopolisacáridos.

Los agentes quimiotácticos endógenos son productos humorales derivados de la activación del sistema del complemento (anafilatoxina C5a), o productos de origen celular de naturaleza lipídica (leucotrieno B₄ y PAF) o peptídica (citocinas quimiotácticas o quimiocinas) (Roitt y col., 1998).

Todos estos agentes actúan a través de receptores específicos de membrana del tipo de los acoplados a proteínas G heterotriméricas y producen una serie de reacciones bioquímicas coordinadas, que incluyen: cambios del potencial transmembranal, variaciones de los niveles intracelulares de nucleótidos cíclicos, modificación de los flujos iónicos a través de la membrana plasmática, activación de la cascada de las MAP cinasas, aumento de la utilización de la glucosa y del metabolismo del oxígeno, y liberación del ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana para su posterior transformación en metabolitos oxigenados conocidos colectivamente con el nombre de eicosanoides.

En unos pocos minutos la morfología leucocitaria se modifica, pasando de su forma redondeada a un aspecto triangular orientada a lo largo del gradiente de concentración del agente quimiotáctico, y dependiente de la reorganización de los elementos contráctiles del citoesqueleto, particularmente los microfilamentos de actina y las estructuras microtubulares.

Estos cambios producen también aumento de la adherencia celular que permite establecer interacciones estables con otros tipos celulares y secreción de enzimas lisosomales.

Señalización a través de los quimioatrayentes: Se produce movilización de iones calcio, activación de receptores de la proteína cinasa C, activación de la cascada de las MAP cinasas y producción de mediadores lipídicos.

Quimiocinas

Las quimiocinas (abreviatura de quimioatrayentes citocinas) constituyen una superfamilia de varias decenas de elementos que intervienen en la reacción inflamatoria por su capacidad para iniciar y mantener la migración de leucocitos a los tejidos. Se componen de una cadena polipeptídica cuya extensión varía entre 8 y 11 kD de peso molecular. Son muy activas a concentraciones de 1 a 100 ng/ml, y son producidas por numerosos tipos celulares. Su producción se induce por agentes exógenos como la endotoxina bacteriana, mediadores endógenos como IL-1, $TNF\alpha$, PDGF (platelet-derived growth factor), $IFN\gamma$ y estimulación de receptores para la porción Fc de la molécula de anticuerpo (Sacca y col., 1997).

Las quimiocinas se unen a receptores específicos de la superficie celular y son citocinas de segundo orden de respuesta, menos pleiotrópicas que las citocinas de primer orden (citocinas proinflamatorias) puesto que no inducen a otras citocinas y poseen una función quimiotáctica muy especializada.

La característica estructural más notable de las quimiocinas es la presencia de cuatro residuos conservados de cisteína que forman un puente disulfuro. Es clásica la división en dos subgrupos de la superfamilia de quimiocinas: C-X-C (donde C indica cisteína y X representa cualquier aminoácido) y C-C.

Esto ha permitido hacer una distinción entre sus propiedades biológicas. Así, la mayoría de las quimiocinas C-X-C atraen a los polimorfonucleares neutrófilos y no a monocitos, mientras que las quimiocinas C-C atraen monocitos, basófilos, eosinófilos y linfocitos, pero no neutrófilos (Sacca y col., 1997).

La interleucina 8 (IL-8) es la molécula prototípica de quimiocina C-X-C. El perfil de la actividad biológica de la IL-8 es muy similar al de los quimioatrayentes clásicos de naturaleza polipeptídica C5a y FMLP (N-formil-metionil-leucil-fenilalanina), o lipídica (PAF y leucotrieno B4) e induce el patrón completo de respuestas observable en los neutrófilos activados, como la activación de la motilidad, la migración direccional, la expresión de moléculas de adhesión, la liberación de enzimas lisosomales y la producción de metabolitos reactivos del oxígeno. IL-8 es también un potente factor angiogénico.

MCP-1 (monocyte-chemoattractant-protein 1) es el elemento prototípico de la subfamilia C-C. MCP-1 atrae a los monocitos humanos a la concentración óptima de agonista 1 nM, durante un periodo de 24-48 horas tras la interacción entre un antígeno específico y linfocitos sensibilizados (Sacca y col., 1997).

Puesto que MCP-1 es también activa sobre los basófilos y produce liberación de histamina, se ha propuesto su participación en la patogenia de la fase tardía de la reacción anafiláctica, en situaciones como alergia alimenticia, asma y urticaria crónica.

Otras quimiocinas C-C como RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) y MIP-1 (macrophage inflammatory protein-1) también producen liberación de histamina (Sacca y col., 1997).

LAS CITOCINAS Y SU MECANISMO DE ACCIÓN

Las citocinas son moléculas proteicas o glicoproteicas, cuya estructura se encuentra estabilizada en muchos casos por puentes disulfuro o por uniones N- y/o O-glicosílicas, que juegan un papel primordial en la comunicación entre células de los organismos multicelulares.

En su calidad de mediadores intercelulares que actúan a concentraciones picomolares, regulan la supervivencia, el crecimiento, la diferenciación y numerosas funciones efectoras de las células.

Además regulan la respuesta inmune en la infección, y en la respuesta inflamatoria asociada a enfermedades articulares, renales, vasculares e intestinales; así como en enfermedades autoinmunes de los sistemas endócrino y nervioso.

A diferencia de las hormonas, las citocinas no se almacenan como moléculas preformadas, sino que se sintetizan rápidamente y se segregan tras la estimulación. Sin embargo, se detectan con dificultad en el suero puesto que las células que las producen son cercanas a sus células blanco y, en consecuencia, no es preciso generar cantidades masivas de citocinas.

La pleiotropía y la redundancia son características de las acciones biológicas de las citocinas, y frecuentemente se producen interacciones entre citocinas que pueden ser: aditivas, sinérgicas o antagonísticas. Sus acciones se ejercen a través de receptores y pueden ser autócrinas, parácrinas o endócrinas, en función de la relación existente entre la célula productora y la célula blanco.

Las citocinas se han clasificado de acuerdo con sus acciones biológicas, los tipos de receptores usados y sus estructuras tridimensionales. Utilizaremos una clasificación en cinco tipos principales, basada en sus acciones biológicas y sus mecanismos de acción:

Tipo I: Hemopoyetinas y factores de crecimiento hematopoyético, como IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, eritropoyetina, GM-CSF, IL-7, IL-9, IL-13 e IL-15.

Tipo II: Interferones e IL-10.

Tipo III: Citocinas proinflamatorias, que incluye la familia de receptores de IL-1, la familia de TNF (TNF-R, CD40, FAS, NGF-R...) e IL-6.

Tipo IV: Citocinas quimiotácticas o quimiocinas.



U.N.A.M CAMPUS

Citocinas proinflamatorias

Interleucina-1

Existen dos formas biológicamente activas, una esencialmente asociada a membrana y otras secretada y circulante. Interviene en las fases iniciales de la inflamación y de la respuesta inmune, y es un ejemplo de molécula pleiotrópica. Sobre el hipotálamo estimula la síntesis de prostaglandinas y causa fiebre, inicia la respuesta inmune al activar linfocitos B y T, y produce cambios en el metabolismo hepático al estar implicada en la inducción de la respuesta de fase aguda. La isoforma estimula la hematopoyesis en cooperación con otras citocinas.

IZT.

El factor de necrosis tumoral (TNF)

Se describió en dos contextos independientes. Por un lado en pacientes cancerosos sin reservas grasas a causa de la presencia en su suero de un mediador soluble (de donde deriva el término caquectina, también aplicado al mediador), y en ratones estimulados con la vacuna de la tuberculosis BCG (Bacilo Calmette-Guérin), donde se generaba un mediador capaz de producir la lisis de las células tumorales (origen del término factor de necrosis tumoral).

Existen dos formas de la molécula TNF α , que poseen actividad antitumoral por citotoxicidad directa y actividad proinflamatoria. El TNF α es activo a bajas concentraciones y actúa a través de receptores bien caracterizados. Ejerce sus acciones sobre linfocitos B y T, macrófagos, fibroblastos, sistema nervioso central y células endoteliales. Es capaz de inducir la expresión de otras citocinas (IL-1 e IL-6) y de las proteínas de fase aguda.

Interleucina-6

Es una molécula que aparece más tardíamente en la reacción inflamatoria. Favorece la producción de plaquetas al actuar sobre sus precursores medulares, la hematopoyesis precoz y la respuesta de fase aguda en los hepatocitos. La familia de la IL-6 se ha incrementado con la caracterización de numerosos componentes como LIF

(leukemia inhibitory factor), oncostatina M (OSM), CNTF (ciliary neurotrophic factor) e IL-11.

LAS MOLÉCULAS DE ADHESIÓN VASCULAR

Las moléculas de adhesión sirven para aumentar la afinidad del contacto entre estructuras complementarias expresadas en las superficie celulares durante la reacción inflamatoria, y transmitir señales al interior de las células que permiten la activación de funciones específicas. Se distinguen al menos cuatro superfamilias de moléculas de adhesión: selectinas, integrinas, miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas y cadherinas.

Selectinas

La familia de selectinas se compone de tres miembros denominados según las células en las que fueron inicialmente descubiertas. La L-selectina (CD62L) se expresa de forma constitutiva en leucocitos y su contra-receptor se expresa en células endoteliales activadas. La E-selectina (CD62E) se produce exclusivamente por las células endoteliales tras su activación por citocinas y su contra-receptor está en los neutrófilos, monocitos, eosinófilos y linfocitos. La selectina P es expresada en el endotelio y las plaquetas, son moléculas transmembranales (Roitt y col., 1998).

Sus células blanco son las mismas que las de la E-selectina. Cada molécula de E-selectina contiene un dominio análogo al dominio N-terminal de lectina seguida de un dominio análogo al motivo de EGF (epidermal growth factor), una serie de repeticiones consensus similar a proteína reguladoras del complemento, un dominio transmembranal y una cola citoplásmica. El dominio de lectina participa directamente en el adosamiento y rodamiento de las células y son previas a las interacciones de más alta afinidad que implican moléculas del tipo integrinas.

Integrinas

Las integrinas son una amplia familia de glicoproteínas heterodiméricas que pueden subdividirse de acuerdo con las subunidades que poseen. Las integrinas se expresan particularmente en los leucocitos e incluyen : LFA-1 (CD11a/CD18), CR3

(DC11b/CD18) y CR4 (CD11c/CD18). Cada una de ellas contiene la misma subunidad de 95kDa, denominada CD18 y cadenas diferentes CD11a (180 kDa), CD11b (165kDa) y CD11c (150kDa). La molécula CD11a/CD18 es el denominado LFA-1 (Lymph y CR4 se expresan en células mieloides. Hay al menos dos ligandos para LFA-1: ICAM-1 (CD54) e ICAM-2 (CD102), ambos miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas. CR3 une fragmentos de factores del complemento, especialmente iC3b, que posee un importante papel en la fagocitosis de partículas opsonizadas por los fagocitos profesionales. ICAM-1 e ICAM-2 se expresan en las células endoteliales. Las moléculas de adhesión de la familia de las integrinas participan en la adhesión del endotelio y a la matriz extracelular (Roitt y col., 1998).

La trans migración de neutrófilos a través de la barrera endotelial requiere finalmente la interacción entre los aminoglicanos glicosilados de la membrana plasmática del polimorfonuclear y la proteína de adhesión PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule), localizada en las uniones intercelulares de las células endoteliales. Una vez que el neutrófilo ha alcanzado el exterior del vaso, este se dirige a la zona lesionada, este proceso es mediado por sustancias conocidas como factores quimiotácticos, que difunden a partir de la zona de lesión tisular. En esta fase las interacciones entre proteínas de la matriz extracelular, las moléculas quimiotácticas y las moléculas de la superficie celular de los neutrófilos (Roitt y col., 1998).

Mediadores químicos del plasma (McCance y Huether, 1998):

- Ø Sistema de la Coagulación.
- Ø Sistema de las Cininas.
- Ø Sistema del Complemento.

Sistema de la coagulación: contacto del plasma con tejido extravascular:

Activa factor de Hageman (XII):

1. Dispara cascada de coagulación al activar al factor XI.
2. Dispara sistema fibrinolítico que produce plasmina.

3. Activa precalicreina, que activa a la calicreina, que produce cininógeno, que origina: Bradicinina y Calidina.

Cininas: Oligopéptidos, que producen:

1. Vasodilatación arteriolar.
2. Contracción de células endoteliales de capilares y vénulas (aumento de la permeabilidad).
3. Estimulación de terminaciones nerviosas sensitivas que producen dolor.

Sistema del complemento:

Presente en el plasma complementario a la acción bactericida.

1. Activa a leucocitos y macrófagos,
2. Produce respuesta inflamatoria aguda y
3. Actúa como opsonina.

Es un conjunto de proteínas inactivas en el plasma y menor concentración en el líquido extracelular. Su activación forma un complejo que ataca las membranas celulares a las que se fija causando su destrucción. Previo a ello da origen a fragmentos polipeptídicos proinflamatorios:

C3a y C5a (de C3 y C5), Anafilotóxicas, que producen liberación de Histamina (degranulación de células cebadas).

C5a: tiene propiedades quimiotácticas sobre granulocitos y macrófagos, además, aumentan la permeabilidad vascular.

C3a: Opsonina sobre complejo inmune.

Mediadores derivados de células (McCance y Huether, 1998):

Histamina: Células cebadas (Mastocitos) y de las plaquetas. Es liberada por estímulos físicos, químicos e inmunológicos. Posee receptores de membrana para Fc que ligan

IgE por un enlace cruzado que causa un efecto estérico sobre los receptores, que la liberan.

Produce:

1. Aumento del flujo sanguíneo regional.
2. Aumento de la permeabilidad de capilares y vénulas.
3. Formación de exudado.
4. Dolor.
5. Prurito.
6. Broncoconstricción.

Eicosanoides: Prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos. Son biosintetizados, no almacenados. (McCance y Huether, 1998).

1. **Prostaglandinas:** a partir de ácido araquidónico, liberado de fosfolípidos de la membrana celular, por el complejo enzimático: ciclooxigenasa o prostaglandina sintetasa (COX), presente en la mayoría de las células.

Existen COX 1 y COX 2.

COX 1: se expresa en la mayoría de las células, produce citoprotección de la mucosa gástrica, etc.

COX 2: Células específicas, macrófagos, células endoteliales, mastocitos, estímulos proinflamatorios.

Las prostaglandinas son:

1. Vasodilatadoras.
2. Potencian: Bradicinina e Histamina.
3. No producen dolor pero sensibilizan terminaciones nerviosas.
4. Broncoconstrictoras.

2. **Los leucotrienos** existen: B, C, D y E. Se sintetizan a partir de ácido araquidónico, por el sistema enzimático de las lipooxigenasa, que están en:

- a. Leucocitos.
- b. Macrófagos.

c. Mastocitos (células sebas).

Producen:

- i. Vasodilatación.
- ii. Broncoconstricción.
- iii. LTb4, es un potente agente quimiotáctico para leucocitos neutrófilos.

Citocinas: polipéptidos producidos por varios tipos celulares. Son mensajeros intercelulares, con amplio rango de acciones que se superponen (Stevens, 1996).

1. IL
2. TNF,
3. IFN,
4. GMCSF:

IL1: Todas las células:

1. Inflamación temprana: producida por endotelio y macrófagos, por estímulos de inflamación.
2. Pirógeno endógeno.
3. Induce a hepatocitos síntesis y liberación de proteínas.
4. Movilización leucocitaria desde médula ósea.
5. Quimiotaxis de neutrófilos.
6. Estimula producción de prostaglandinas.

TNF: sintetizado por macrófagos y leucocitos, inhibe actividad de protein-lipasa en adipositos, lo que causa: pérdida de peso y caquexia. Actúa contra bacterias y tumores.

En inflamación:

1. Actúa como mediador activando leucocitos.
2. Favorece adhesión al endotelio.
3. Estimula la migración leucocitaria.
4. Estimula la proliferación de fibroblastos.
5. Actúa a nivel del hipotálamo produciendo fiebre y anorexia.

INF: Glicoproteínas, interfieren con la replicación viral, activan funciones de macrófagos de: Fagocitosis y Síntesis de IL1.

FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

La respuesta inflamatoria aguda puede tratarse con fármacos antiinflamatorios, que impiden la producción de los mediadores fundamentales de la inflamación.

Estos fármacos pueden ser de dos tipos:

I.- Fármacos esteroideos. Entre los más utilizados son: Dexametasona, Cortisona, Hidrocortisona, Prednisona y Prednisolona (Fig. 1) (Hardman y col. ,1996).

La actividad antiinflamatoria de los fármacos esteroideos se debe a que:

a) Estimulan la síntesis de la lipocortina, proteína que inhibe a la fosfolipasa A2, esto disminuye la liberación de ácido araquidónico y la síntesis de sus metabolitos.

b) Inhiben a la óxido nítrico sintetasa y la transcripción de las citocinas:IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-8 y TNF- α ; esto a su vez inhibe la expresión de moléculas de adhesión de las células endoteliales (Barnes, 1993).

El uso continuo de fármacos de tipo esteroideal causa los siguientes efectos colaterales indeseables: mayor susceptibilidad a la infección, úlcera péptica, miopatía, nerviosismo, insomnio, cambios del estado de ánimo, se han observado cataratas subcapsulares posteriores en niños, osteoporosis y fracturas vertebrales por compresión, inhibición del crecimiento en niños (Hardman y col., 1996).

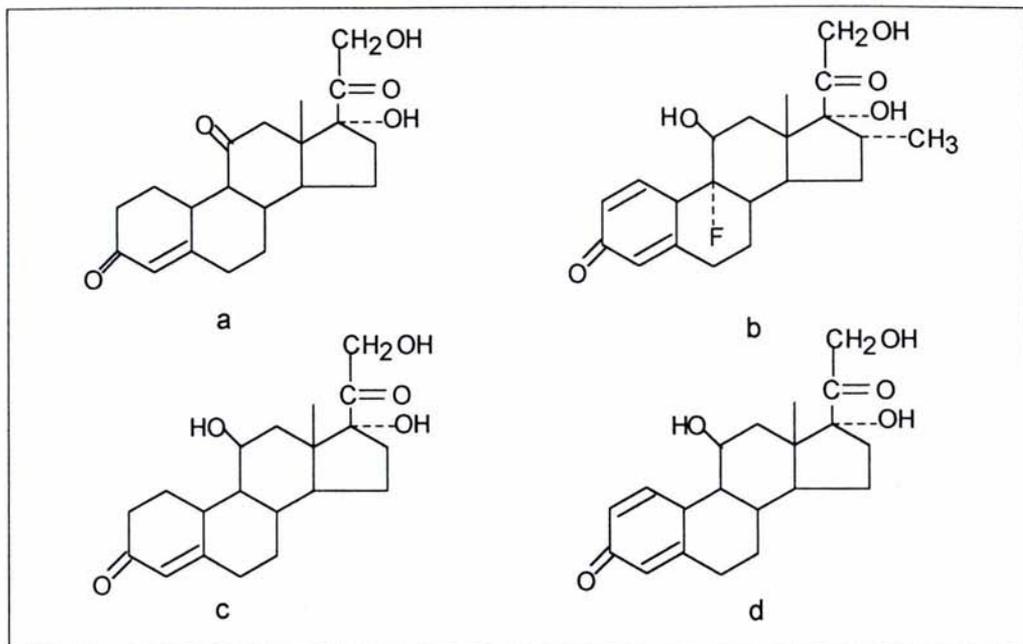


FIGURA 1: Estructura química de algunos fármacos antiinflamatorios esteroidales: a) cortisona, b) dexametasona, c) hidrocortisona, d) prednisona (Bowman y Rand, 1984).

II.- Fármacos no esteroidales. Entre los más utilizados están: el ácido salicílico, ibuprofén, indometacina y fenilbutazona (Fig. 2) (Hardman y col., 1996).

Los fármacos no esteroidales inhiben a la ciclooxigenasa, enzima que cataliza la conversión de ácido araquidónico en prostaglandinas (PGE₂, PGF₂, PGD₂), tromboxanos y prostacilinas; además inhiben la migración de leucocitos y macrófagos hacia el sitio lesionado e inhibe la agregación plaquetaria (Higgs, 1987).

Los fármacos no esteroidales tienen en común varios efectos indeseables; el más frecuente es la propensión a inducir úlcera gástrica o intestinal que a veces puede acompañarse de anemia secundaria por la pérdida de sangre, disturbios en la función plaquetaria, reducen el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva o cirrosis hepática (Hardman y col., 1996).

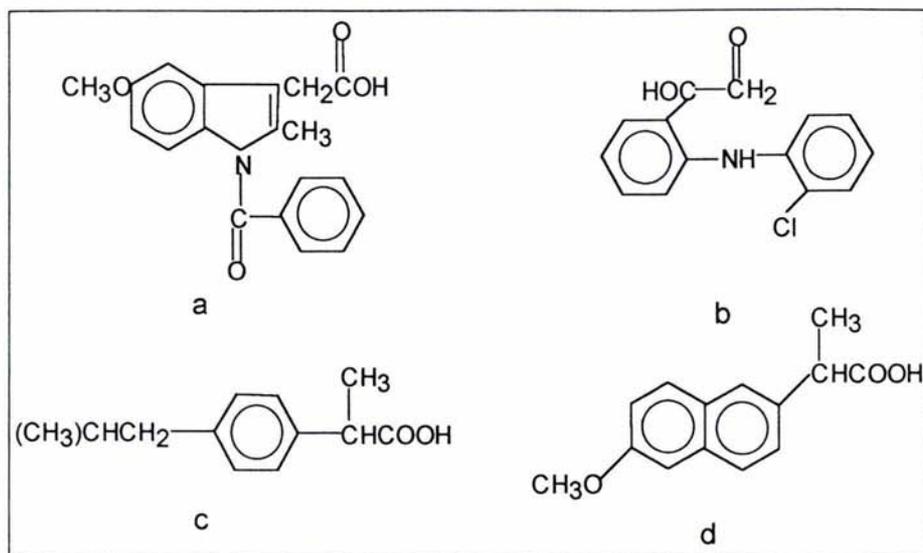


FIGURA 2 Estructura química de algunos fármacos antiinflamatorios no esteroidales. a) indometacina, b) diclofenac, c) ibuprofeno, d) naproxeno (Hardman y col., 1996).

MEDICINA TRADICIONAL POPULAR.

Las plantas constituyen una fuente de singular importancia y un enorme recurso para la búsqueda de nuevas alternativas de antiinflamatorios. La medicina tradicional popular mexicana es un buen ejemplo de la importancia de las plantas; el valor y la aceptación que manifiestan como recurso terapéutico en amplios segmentos de la población, para el tratamiento de un gran número de enfermedades de origen diverso, está demostrado sobremedida en función de la práctica generalizada de los recursos vegetales como una alternativa medicinal.

La búsqueda permanente de nuevos fármacos, tanto de origen vegetal como de origen animal, capaces de ofrecer una mejor acción terapéutica y que simultáneamente permitan disminuir los efectos secundarios nocivos, sin duda demanda un esfuerzo de investigación constante. Los resultados que se obtienen, sin embargo, no siempre son los más alentadores, el caso particular de los fármacos antiinflamatorios no son la

excepción de la regla; la mayoría de estos fármacos se sintetizaron tomando como base la estructura química de algunos preexistentes. Esto generó en consecuencia, una proliferación de antiinflamatorios con escasas diferencias farmacológicas que en muchos casos, da como resultado que también compartan los mismos efectos secundarios.

En México existe una gran variedad de plantas que se utilizan para el tratamiento de padecimientos inflamatorios. A continuación por mencionar algunos ejemplos, se señalan algunas de las más destacadas, tomando como referencia, la recomendación que de ellas hace la medicina tradicional popular: capulín (*Cerasus capuli*), linaza (*Linum usitatissimum*), almendra dulce (*Prunus amygdalus*), llantén (*Plantago major*), malva (*Malva silvestris*), diente de león (*Taraxacum officinale*), y la gran mayoría de las especies de *Aloe* (Martínez, 1961; Díaz, 1976; Argueta y col., 1994).

Para la realización de este trabajo se utilizó como sujeto de estudio a la planta *Annona reticulata*, especie conocida comúnmente como "anona" y recomendada por la medicina tradicional popular en el tratamiento de algunos padecimientos que involucran estados inflamatorios.

INFORMACION TAXONÓMICA.

***Annona reticulata* L. B & L.**

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Magnoliales.

Familia: Annonaceae.

Género: *Annona*

Especie: *reticulata*

Nombre científico: *Annona reticulata* L. B & L.

Nombre popular: Anona, anón, anonillo.

DISTRIBUCIÓN.

Es nativo de México hasta Panamá, Sur América y las Antillas

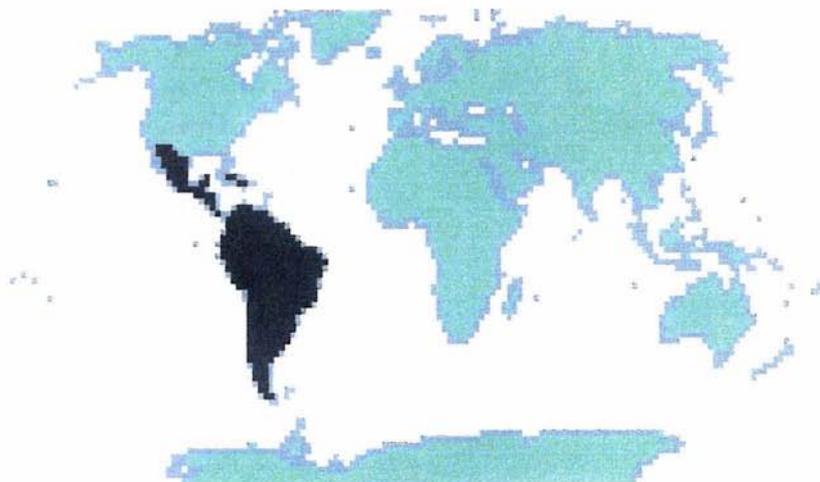


Figura 3. Distribución de *Annona reticulata* L.

CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.

Annona reticulata es una planta originaria de América Tropical de uso muy antiguo, es un árbol de 5 a 13 m. de altura, frondoso, con la corteza lisa y café. Ramitas glabras. Hojas simples, alternas, dísticas, de 10 a 20 por 1.2 a 6.5 cm., de lanceoladas a oblongo-lanceoladas.

Flores en inflorescencias cortas de 0.5 a 3 cm de largo; de coloración verde-amarillenta. Tres pétalos externos de 1.5 a 2.5 cm de largo. Las flores son carnosas, solitarias, de color amarillo oscuro con pelillos cortos por fuera.

Frutos agregados (sincárpicos), globoso-ovoides de forma acorazonada, de 8 a 12 cm de diámetro, amarillentos al madurar, con pulpa dulce o insípida y aromática. Cuenta con numerosas semillas, negras y lustrosas (Zamora, 1989).

Las hojas se tornan color gris negruzco o ennegrecidas después de ser secadas.



Figura 4. *Annona reticulata* L.

Fenología: Las flores se observan entre junio y septiembre. Los frutos se observan entre octubre y diciembre.

Hábitat: Habita zonas de clima cálido, semicálido y templado entre el nivel del mar y los 1000 m. Se cultiva en huertos familiares y se encuentra asociada a vegetación perturbada de bosque tropical caducifolio, subcaducifolio, subperennifolio y perennifolio, bosque espinoso, mesófilo de montaña, de encino y de pino.

Forma biológica: árbol (Zamora, 1989).

USO MEDICINAL

- En Michoacán se caracteriza por la presencia de granos que provocan mucha comezón, se multiplican, crecen y pueden ocasionar calentura. Para curarla se emplean las hojas machacadas y puestas a manera de emplastos sobre las partes afectadas (Argueta y col., 1994).

- En Tabasco se usa para dolores estomacales e intestinales, la hoja soasada se aplica sobre el estómago (Argueta y col., 1994).

- Para el pasmo (causado por la inflamación o la infección de granos, llagas o heridas) se ocupa el cocimiento de las hojas en baños; por vía oral, se acompaña de orégano (*Lippia graveolens*), cominos (*Cominum cyminum*), bejuco tronador (*Cardiospermum halicacabum*), corteza de cuétamo (*Cordia eleagnoides*), bálsamo de palo (*Myrospermum frutescens*) y jugo de maguey cuijillo (*Agave augustifolio*) (Argueta y col., 1994).
- En la herbolaria se recomienda en el tratamiento de algunos padecimientos que involucran estados inflamatorios (Martínez, 1961).
- En problemas dermatológicos, como la disipela producida por la falta de higiene en la piel o por contagio (Argueta y col., 1994).
- Contra la crudeza del estómago en los niños, se hace un té con las hojas (Argueta y col., 1994).
- Entre los mayas, nahuas y zapotecas se emplea en el tratamiento de enfermedades del tracto gastrointestinal (Heinrich, 2000).
- Cuando se sufre una dislocación o falseadura es suficiente tallar la parte lesionada con la hoja soasada (Argueta y col., 1994).
- Se emplea en caso de sinusitis y gripe constipada (Argueta y col., 1994).
- Se utiliza como astringente, antidiarreico, contra la epilepsia, la inflamación, contra los espasmos, contra los tumores y vermífugo (Morton, 1987).
- La pulpa del fruto se emplea como cataplasma para reducir las inflamaciones.
- En Cerro Azul, Ver. los habitantes la utilizan para padecimientos inflamatorios y tratamiento de la diarrea.
- Las semillas pulverizadas son utilizadas para matar piojos.

OTROS USOS.

- En algunas partes del estado de México, las hojas y las ramas algunas veces se emplean para teñir, y se dice que producen un color azul-negro o negro (Morton, 1987).
- El Códice Florentino (siglo XVI) la menciona como comestible (Argueta y col., 1994).
- Se utiliza como insecticida (Morton, 1987).
- Las hojas contienen alcaloides potencialmente venenosos (Morton, 1987).

FITOQUÍMICA.

En la corteza de *Annona reticulata* se han detectado los diterpenos ácido kaurenico, kaurenol, el éter metílico del ácido hidroxikaurenico y dos isómeros; el sesquiterpeno óxido de cariofileno, los alcaloides de isoquinolina (annonina y liriodenia) y las lactonas bullatacina, reticulatacina y 25-deoxi-14-hidroxi-rollicina. En la corteza de la raíz se han identificado los alcaloides de isoquinolina anonaria, así milobina liriodenina, michelalbina, 3-hidroxi-nornuciferina, reticulina, y ushinsanina y los alcaloides del indol anomontina y el derivado metoxilado. La hoja contiene los sesquiterpenos delta-cadinal, elemol (actividad antiulcera) y alfa-eudesmol (bloqueador del canal de calcio); el poliprenoide solaseno; y los alcaloides coclaurina (recuperación de leucopenia y trombocitopenia) y salsolinol (analgésico de acción periférica) y la dopamina (antagoniza la inflamación), también presentes en el tallo. En el fruto se reportan los diterpenos ácido kaurenico (analgésico y antibacteriano) y el éster metílico de su derivado de hidroxilado (Argueta y col., 1994)

FARMACOLOGIA.

Los estudios farmacológicos realizados sobre esta planta demostraron la actividad antiespasmódica de un extracto etanólico-acuoso de las partes aéreas de la planta en ileon de cobaya al que se indujeron espasmos con acetilcolina e histamina. La actividad antiespasmódica también fue observada con una decocción preparada de hojas y evaluado en duodeno aislado de rata.

En la India, utilizando un modelo experimental de detección de actividad antitumoral se comprobó esta actividad en un extracto etanólico preparado a partir de tallos secos.

Se han comprobado también actividades cronotrópica e inotrópica positiva con un extracto de metanol-agua, preparado a partir de hojas y tallos de la planta, evaluado en corazón de conejo.

Un extracto acuoso de hojas no mostró actividad sedante a dosis inferiores o iguales a 2.5 g/kg, al evaluarse en ratones por vía intraperitoneal (Argueta y col., 1994).

TOXICIDAD.

Al evaluar la toxicidad aguda de una decocción de hojas administrada en ratones (macho y hembra) a las dosis de 100 y 200 mg/Kg, no se observaron efectos nocivos ni muerte en un período de 14 días después de la aplicación del extracto (Argueta y col., 1994).

ÁREA DE RECOLECTA.

La planta se recolectó para la parte experimental en Cerro Azul, Veracruz, (Figura 5) poblado que se localiza en la región montañosa de la Huasteca, zona norte del Estado de Veracruz, en las coordenadas 21° 11' latitud norte y 97° 44' longitud oeste, a una altura de 140 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Tancoco, al este y al sur con Te mapache y al suroeste con Tepetzintla. Su distancia aproximada por carretera a la capital del estado es de 295 Km.

La zona cuenta con una superficie de 92.50 Km², cifra que representa un 0.13% del total del Estado.

El Municipio de Cerro Azul se encuentra ubicado en la zona norte del Estado de Veracruz, en la fracción montañosa de la Huasteca; su relieve presenta las irregularidades del conjunto montañoso de la Sierra de Otontepec.

Se encuentra regado por pequeños ríos que vierten sus aguas en el estero de Tanguijo, por donde desagua la laguna de Tamiahua.

Su clima es cálido-extremoso con una temperatura promedio de 22 °C; su precipitación pluvial media anual es de 1 mil 600 mm.

Los ecosistemas que coexisten en el municipio son el de selva mediana subperennifolia con arboles como el caoba, pucté y álamo; donde se desarrolla una fauna compuesta por poblaciones de mamíferos silvestres como liebres, conejos y ardillas.

La cabecera es uno de los principales centros petroleros del país, la región es mundialmente famosa, desde el descubrimiento en su territorio en 1906, del pozo número 4.

Predomina el suelo regosol, se caracteriza por parecerse a la roca de donde se origina, la susceptibilidad a la erosión es variable. Es utilizado en pequeñas proporciones para la agricultura y la ganadería (Musacchio, 1990).

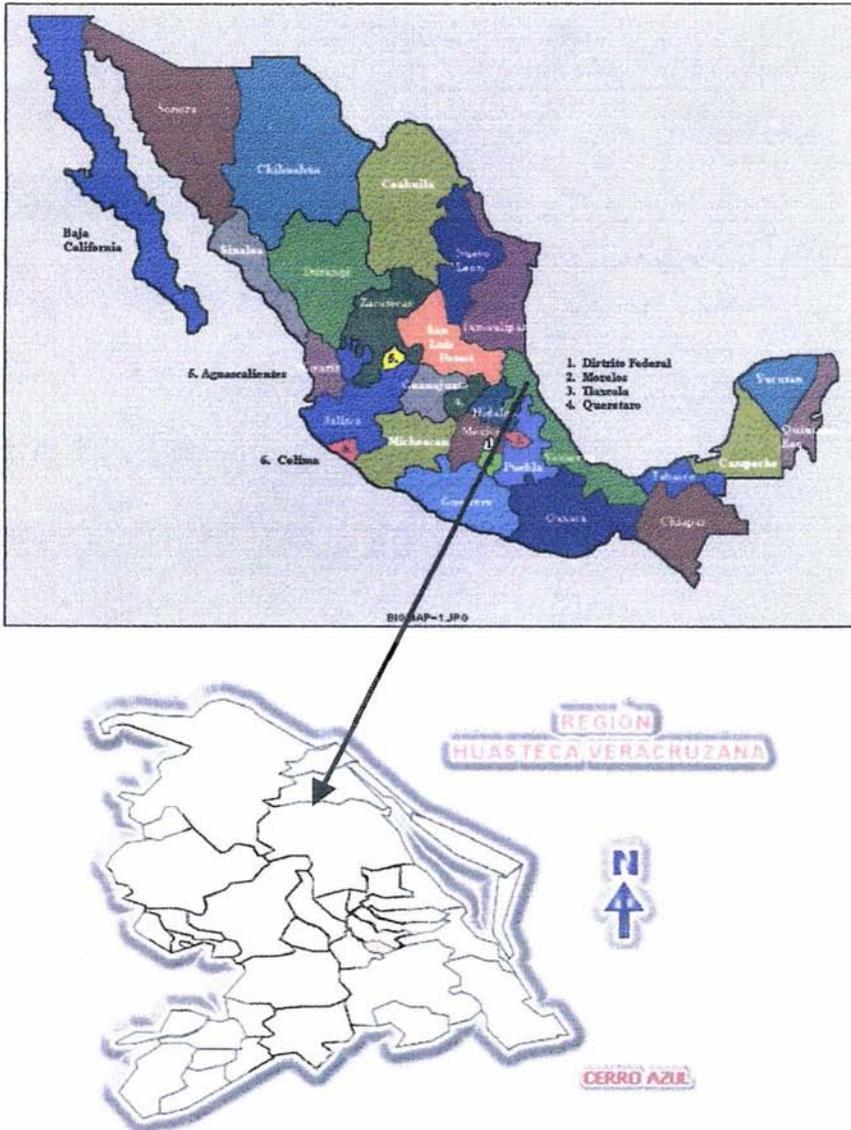


Figura 5. Localización del área de colecta de la planta (Cerro Azul, Veracruz).

ANTECEDENTES.

Martínez (1961) menciona que *A. reticulata* se recomienda en el tratamiento de algunos padecimientos que involucran estados inflamatorios.

El Códice Florentino (Siglo XVI) la menciona como comestible.

Cassady y col. (1990) mencionan a *A. reticulata* como un agente potencial quimiopreventivo y quimioterapéutico para el cáncer, ya que en su composición química se reportan agentes citotóxicos.

JUSTIFICACIÓN

La mayor parte de los antiinflamatorios derivan de los productos de laboratorios de síntesis química, que por lo general, tienen efectos colaterales, los cuales se acentúan con el uso prolongado de los fármacos; por lo cual los investigadores se han enfocado a realizar una búsqueda permanente de nuevos fármacos capaces de ofrecer una mejor acción terapéutica y que simultáneamente permitan disminuir los efectos secundarios nocivos, por lo cual consideramos que las plantas constituyen una fuente de singular importancia, y un enorme recurso para la búsqueda de nuevas alternativas. Por lo que *A. reticulata* se recomienda en la medicina tradicional popular en el tratamiento de algunos padecimientos que involucran estados inflamatorios, por lo cual nos planteamos el siguiente objetivo.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Probar la actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto acuoso de las hojas de la planta *Annona reticulata* (ANONACEAE) en modelos experimentales de inflamación y dolor en roedores.

Objetivos particulares:

- 1.- Probar el efecto del extracto acuoso de *Annona reticulata* sobre la inflamación con los métodos de formación de edema y migración celular inducidos con carragenina en ratas.
- 2.- Probar el efecto antinociceptivo del extracto acuoso de las hojas de *Annona reticulata* en un modelo de dolor, con la inducción de contorsiones abdominales con ácido acético en ratones.
- 3.- Probar el efecto tóxico agudo del extracto acuoso de las hojas de *Annona reticulata* en ratones.

MATERIAL Y METODOS

I.- TRABAJO DE CAMPO.

1.- Adquisición de la planta.

Las hojas y fruto de *Annona reticulata* (Figura 6) se colectaron en Cerro Azul, Ver. (aproximadamente 500 g de hojas para la parte experimental, en enero del 2001) y posteriormente la Biól. Edith López Villafranco corroboró su identidad botánica en el Herbario de la FES Iztacala, UNAM. El ejemplar de Herbario de *Annona reticulata* L. como aval botánico de la investigación, se integró a la colección del Herbario Iztacala con el No. de Reg. 28914.

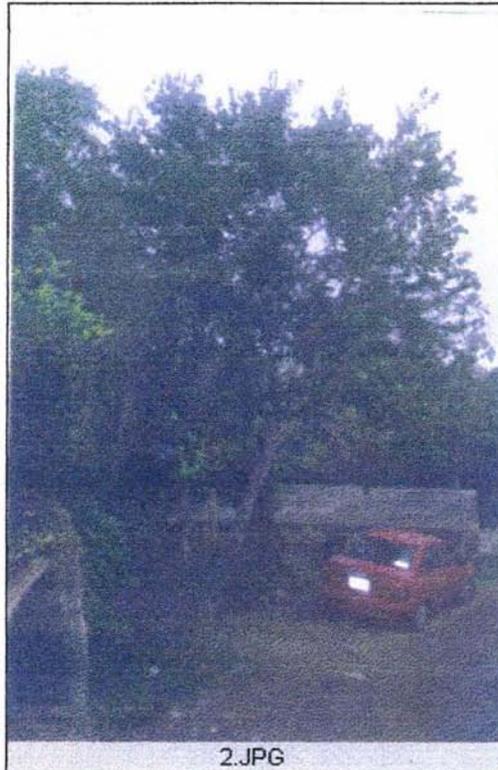


Figura 6.- Arbol de *Annona reticulata* L.

II.- TRABAJO DE LABORATORIO.

1.- Organismos experimentales.

Se utilizaron ratas Wistar, machos, de 250-300 g de peso corporal y ratones machos de la cepa CDI de 20-25 g de peso corporal, los cuales se mantuvieron en cautiverio bajo un régimen de dieta estándar con toma libre de agua.

2.- Preparación del extracto acuoso.

1) Las hojas secas de *A. reticulata* se pulverizaron, se pesaron y se pusieron en agua destilada a ebullición durante 10 minutos, en una proporción de 1 g de hojas por 20 ml de agua.

2) Para eliminar los restos de material vegetal el extracto se filtró y después se colocó en un vaso de precipitado previamente pesado. Posteriormente se secó en horno a una temperatura de 60°C durante 24 h, aproximadamente.

3) Luego se determinó el peso del extracto seco, para resuspenderse en solución salina estéril (Abbot).

4) El pH se ajustó a 7.4 con gotas de solución de NaOH 1 N y se guardó en viales manteniéndose en congelación hasta el momento de ser utilizado.

3.- Investigación de la actividad antiinflamatoria.

3.1. Formación de edema

1) Se formaron al azar 4 grupos de ratas, a los cuales se les administraron los siguientes tratamientos por vía oral (Figura 7).

Grupo 1) Solución salina al 0.9 % (1ml).

Grupo 2) Indometacina (Merck-Sharp & Dohme) 10 mg/kg de peso.

Grupo 3) Extracto acuoso de *A. reticulata* 200 mg/kg de peso.

Grupo 4) Extracto acuoso de *A. reticulata* 300 mg/kg de peso.



Figura 7.- Administración por vía oral.

Una hora después de administrados los diferentes tratamientos, se inyectó 0.1 ml de carragenina al 1% (Figura 8) (Winter y col., 1962), preparada con solución salina estéril al 0.9 %, en una de las extremidades posteriores de los animales en la región de la aponeurosis plantar. En la otra extremidad se aplicó un volumen igual de solución salina estéril al 0.9 %. Posteriormente, se procedió a obtener un registro durante el curso temporal de la formación de edema a través del incremento del volumen en las extremidades tratadas durante cuatro horas. Las mediciones se hicieron a intervalos de una hora, siguiendo el método de desplazamiento del mercurio propuesto por Van Arman y col. (1965) el cual consiste en medir la presión que ejerce el desplazamiento del mercurio en una columna, al introducir las extremidades tratadas con carragenina (inflamación) y solución salina (control) (Figura 9). La columna de mercurio estaba conectada a un transductor de presión P-1000 A (Narco Bio Systems), a su vez interconectado a un amplificador y un sistema de registro, en este caso un fisiógrafo de mesa Mod. DMP-4B (Narco Bio Systems) (Figura 10). La diferencia de volumen registrada entre las dos extremidades posteriores a las cuales se administró carragenina y solución salina, respectivamente, se consideró como el edema producido y se expresó en μl .

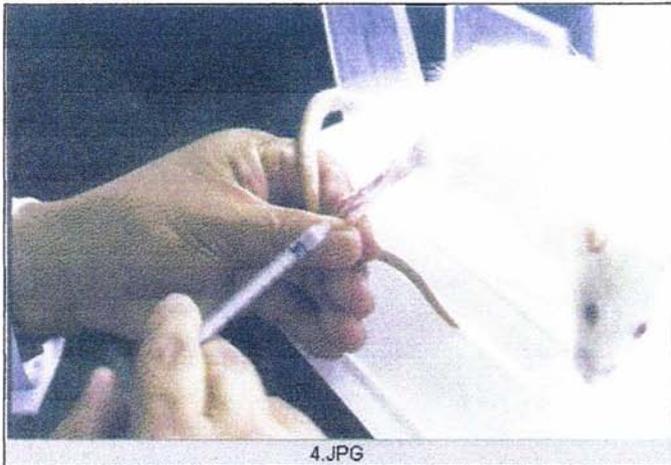


Figura 8.- Aplicación intraplantar de la carragenina.

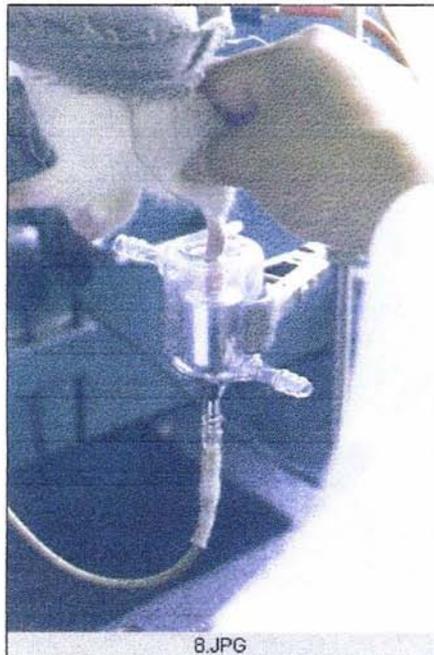


Figura 9.- Medición del edema plantar.

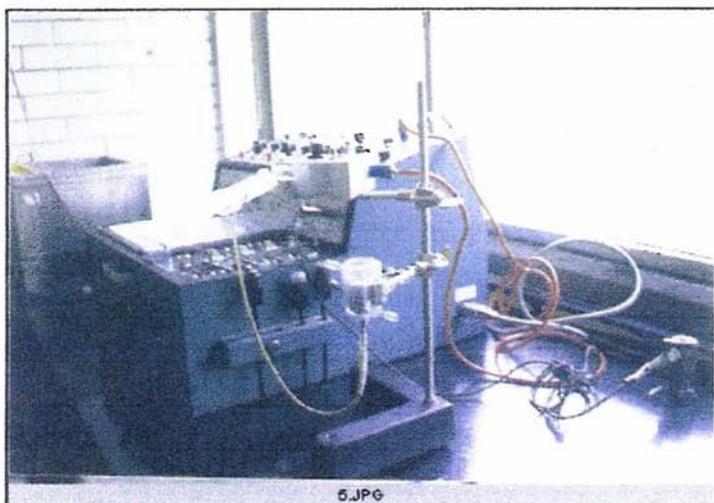


Figura 10.- Sistema fisiográfico para la medición y registro del edema.

3.2. Migración celular a la cavidad peritoneal.

1) Se formaron al azar 4 grupos de ratas, a los cuales se les administraron los siguientes tratamientos por vía oral.

Grupo 1) Solución salina estéril al 0.9% (1ml).

Grupo 2) Dexametasona 1 mg/kg de peso.

Grupo 3) Extracto acuoso de *A. reticulata* 300 mg/kg de peso.

2) Una hora después de aplicados los tratamientos, se aplicaron 3 ml de carragenina (100 µg/ml, preparada en solución salina estéril al 0.9 %), por vía intra peritoneal (i. p) (Figura 11).

3) Después de 4 h las ratas se sacrificaron por dislocación cervical, se les lavó la cavidad peritoneal con 10 ml de solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) pH=7.4 conteniendo 5 U/ml de heparina y 5% de albúmina sérica bovina, y se aplicó masaje en la región abdominal por espacio de dos minutos, aproximadamente.

4) Del líquido peritoneal de cada uno animales, se recuperaron 5 ml de líquido, se tomaron muestras de 20 µl que se diluyeron en 400 µl de violeta de genciana en ácido acético, para la cuenta total de leucocitos en la cámara de Neubauer .

- 5) El volumen restante del lavado peritoneal se centrifugó por 3 minutos a 1500 rpm; se decantó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió en 0.4 ml de la solución de seroalbúmina al 3 % .
- 6) De esta suspensión se aplicaron 1 y 2 gotas, respectivamente, sobre portaobjetos cubiertos con papel filtro (con dos perforaciones de $\frac{1}{2}$ cm) que se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24 h.
- 7) Una vez que los portaobjetos estuvieron secos, se les quitó el papel filtro y se tiñieron sumergiéndolos por 5 minutos en colorante de Wright y se lavaron por 3 minutos en agua corriente.
- 8) En los portaobjetos así preparados, se hizo la cuenta diferencial de células blancas de acuerdo con el método propuesto por Souza y Ferreira, 1985, que consiste en registrar el número de neutrófilos de entre los diferentes grupos de leucocitos para obtener la migración celular hacia la cavidad peritoneal.



Figura 11.- Administración intraperitoneal de 3 ml de carragenina (100 μ g/ml).

4.- Efecto analgésico.

- 1) Se formaron al azar 5 grupos de ratones, a los cuales se les administraron los siguientes tratamientos por vía oral.

Grupo 1) Solución salina estéril (0.1 ml/10 g).

Grupo 2) Indometacina 10 mg/kg de peso.

Grupo 3) Extracto acuoso de *A. reticulata* 100 mg/kg de peso.

2) Después de transcurridos 30 minutos, se administraron a cada animal por vía intra peritoneal 60 mg de ácido acético/kg de peso corporal de una solución al 0.6 % (Koster y col., 1959). Por ser el ácido acético un compuesto irritante, el propósito de esta operación fue inducir dolor, uno de los síntomas que acompañan al proceso inflamatorio. Como muestra evidente de dolor el animal exhibió "contorsiones" (Bowman y Rand, 1984), las cuales consisten en comprimir la zona del abdomen contra la superficie de la mesa proyectando al mismo tiempo las patas traseras hacia atrás (Figura 12).

3) Una vez administrado el ácido acético, se procedió a contar el número de contorsiones.

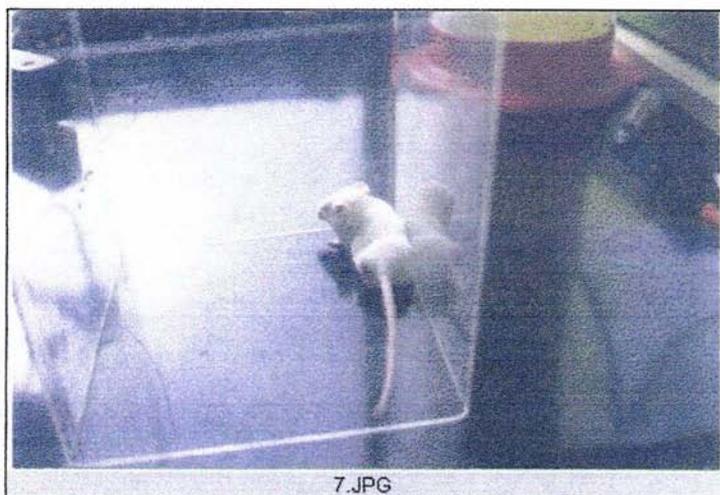


Figura 12.- Ratón en contorsión.

5.- Análisis estadístico.

De los resultados obtenidos de todos los experimentos se calcularon la media de cada uno de los grupos y el error estándar de la media. Para determinar la significancia entre los tratamientos aplicados, se utilizó la prueba de "t de Student" para una $P < 0.05$ para comparar ambos grupos.

RESULTADOS.

El objetivo del presente estudio fue corroborar si el extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata* (anona) tiene propiedades antiinflamatorias y debido a ello puede inhibir los mecanismos que participan en el desarrollo de la inflamación, entre los cuales están: la formación del exudado plasmático inflamatorio (edema), la migración de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos) hacia la zona lesionada (quimiotaxis) y la supresión del dolor (analgesia).

Se inició el estudio colectando las hojas de la planta para preparar los extractos acuoso y metanólico de las hojas de *A. reticulata*.

En la Tabla 1 se muestran los rendimientos del material extraído con agua y metanol de las hojas del árbol. De 100g de ramas se pueden obtener 8 g de material soluble en agua y 0.7g de compuesto soluble en metanol.

TABLA 1. RENDIMIENTOS DE LOS EXTRACTOS DE *A. reticulata*.

<i>Annona reticulata</i>	Peso	Porcentaje
Hoja	5 g	100%
Extracto Acuoso	0.4 g	8%
Extracto Metanólico	0.11g	2.2%
Extracto Residual	0.29 g	5.8%

Para probar los efectos del material extraído con agua de las hojas de *A. reticulata* sobre el proceso inflamatorio se emplearon 2 modelos de inflamación aguda: la formación de edema y la migración celular inducidos por carragenina.

Formación de edema.

En el ensayo de la formación de edema inducido por carragenina, se observó que la extremidad posterior del grupo control (sin tratamiento) mostró un incremento de volumen dependiente del tiempo que llegó al máximo en cuatro horas, el incremento de volumen fue de $438 \pm 27 \mu\text{l}$ en este tiempo.

El grupo tratado con indometacina (10 mg/kg, vía oral), a las 4 mostró un incremento de $105 \pm 23 \mu\text{l}$. Es decir, la indometacina previene la formación de edema en un 76% (Figura 13).

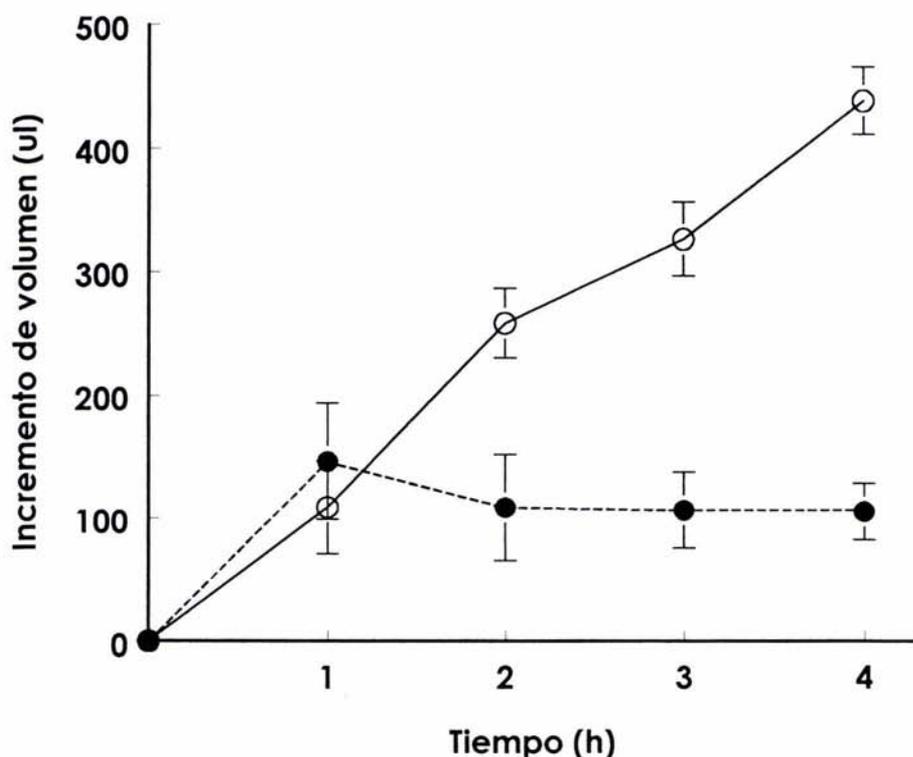


FIGURA 13: Efecto de la indometacina 10 mg/kg (●) y solución salina (O), administrados por vía oral sobre el edema inducido por 0.1 ml de carragenina (1 %) en la extremidad posterior de la rata (n=5, * p<0.05).

EFECTO DE *A. reticulata* SOBRE EL EDEMA.

Extracto acuoso de las hojas.

En la Figura 14 se muestra el efecto producido por el extracto acuoso de *A. reticulata* sobre la formación de edema inducido con carragenina en la región plantar de las extremidades inferiores, en el cual se observó que en la extremidad posterior del grupo control (sin tratamiento), mostró un incremento de volumen en un lapso de tiempo de cuatro horas de $499 \pm 55 \mu\text{l}$. El grupo tratado con indometacina en un lapso igual de tiempo que el control, mostró un incremento de $87 \pm 20 \mu\text{l}$. El grupo tratado con el extracto acuoso de *A. reticulata* mostró un menor incremento de volumen que el control siendo de $296 \pm 62 \mu\text{l}$ a la dosis de 200 mg/kg de peso, en el cual hubo una inhibición de la formación de edema de un 41%.

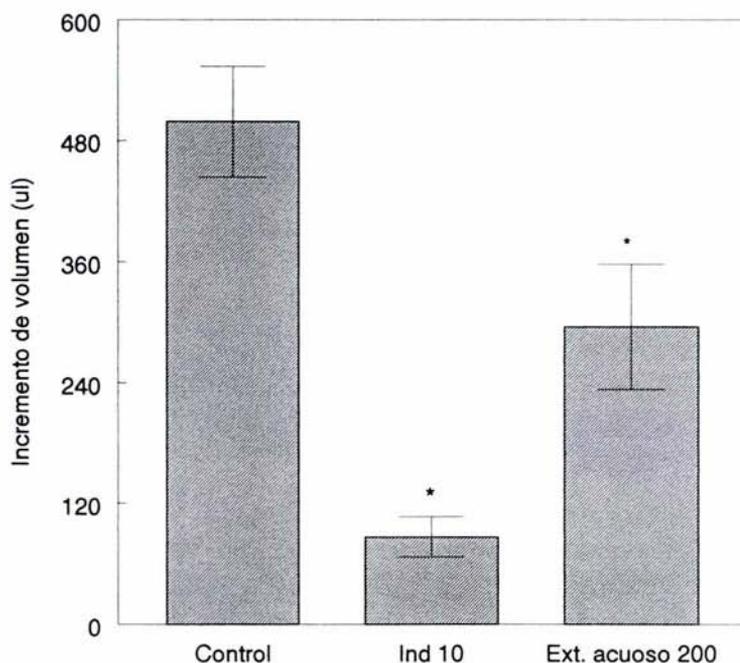


Figura 14.- Efecto del extracto acuoso de *A. reticulata* 200 mg/kg, indometacina 10 mg/kg y solución salina, administrados por vía oral, sobre el edema inducido por 0.1ml de carragenina al 1% en la extremidad posterior de la rata (n = 5, *p<0.05).

EFECTO DE *A. reticulata* SOBRE LA MIGRACIÓN CELULAR.

Extracto acuoso de las hojas.

En la Figura 15 se muestra el efecto producido por el extracto acuoso de *A. reticulata* sobre la migración de los leucocitos motivada por una irritación de la cavidad peritoneal con carragenina (300 $\mu\text{g}/3\text{ ml}$); se observa que en el control migraron $15,705 \pm 934$ neutrófilos/ mm^3 , mientras el extracto acuoso de *A. reticulata* en la dosis de 300 mg/kg de peso previene la migración celular en un 54% ($7,206 \pm 1,216$ neutrófilos / mm^3). La dexametasona (1 mg/kg, v.o.) (fármaco antiinflamatorio esterooidal) previene la quimiotaxis en un 66% ($5,254 \pm 179$ neutrófilos/ mm^3).

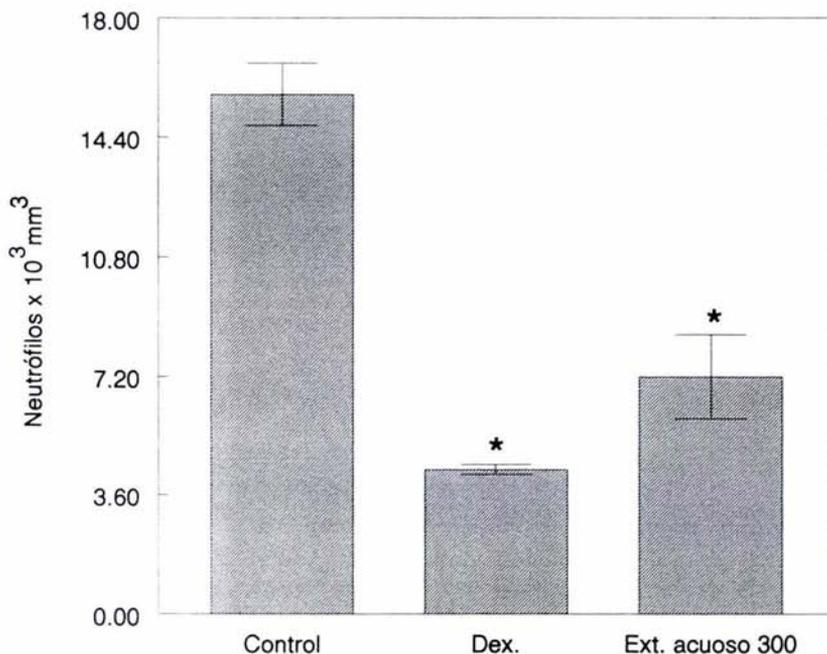


Figura 15.-Efecto del extracto acuoso de *A. reticulata* 300 mg/kg y solución salina, por vía oral, sobre la migración de neutrófilos a la cavidad peritoneal irritada con carragenina (300 mg/3ml) (n =5; *p<0.05).

EFFECTO ANALGÉSICO DE *A. reticulata*.

En la Figura 16 se puede observar que el grupo control fue el que mayor dolor mostró considerando que fue el que tuvo un promedio de 36 ± 2 contorsiones en un lapso de 20 minutos, a partir de la aplicación del ácido acético (60 mg/kg, vía i.p.). El grupo tratado con la indometacina (10 mg/kg, vía oral) mostró 7 ± 2 contorsiones con una disminución del 80% en las contorsiones causadas por el ácido acético en comparación con el grupo de ratones control. Los ratones tratados con el extracto acuoso de *A. reticulata* (300 mg/kg, v.o.) mostraron una reducción en el número de contorsiones del 63 % (13 ± 3 contorsiones) en comparación con el grupo control.

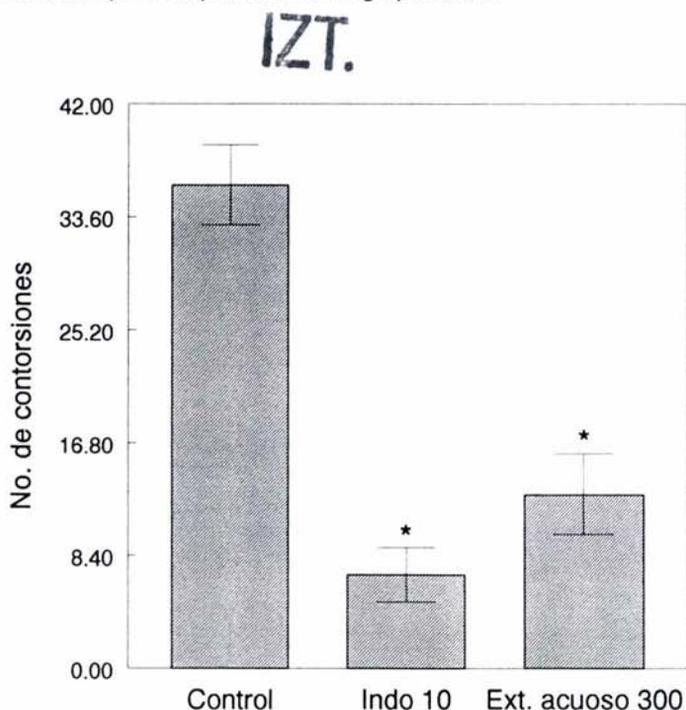


Figura 16.-Efecto del extracto acuoso de *A. reticulata* 300 mg/kg, indometacina 10 mg/kg y solución salina (1 ml), por vía oral, sobre las contorsiones inducidas por la administración intraperitoneal de ácido acético (60 mg/kg) (n =5, *p<0.05).

PRUEBA DE LA TOXICIDAD AGUDA.

Durante el desarrollo de fármacos nuevos, además de probar la eficacia terapéutica de un preparado, se demuestra su inocuidad, es decir, que carezca de efectos colaterales nocivos o tóxicos. Por lo cual se probó la posible toxicidad aguda de dosis altas del extracto acuoso de la *A. reticulata*.

En la Tabla 2 se muestran las observaciones de los ratones a los que se les aplicó el extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata* en dosis de 3 y 5 g/kg, vía i. p. Incluso en la dosis de 5 g/kg no se observaron muertes que indicaran la toxicidad letal aguda del preparado.

Tabla 2.- Prueba de la toxicidad aguda del extracto acuoso de *A. reticulata*.

DOSIS	OBSERVACIONES
3 g / kg de peso	Se mantuvieron quietos. No murieron.
5 g / kg de peso	Presentaron hiperventilación. No murieron.

FRACCIONAMIENTO QUÍMICO DEL EXTRACTO ACUOSO.

Con el fin de realizar una aproximación hacia el aislamiento del principio activo antiinflamatorio se fraccionó el extracto acuoso con metanol obteniéndose 2 fracciones: la fracción metanólica y un precipitado. Ambas fracciones se probaron en el bioensayo de formación de edema y los resultados se muestran en la figura 17.

Efecto antiedema de la fracciones metanólica y residual de *A. reticulata*.

Se observó que en el grupo control hubo un incremento de volumen de $409\text{ml} \pm 38 \mu\text{l}$. La fracción metanólica no afectó el progreso de la inflamación ($420 \pm 20 \mu\text{l}$) pero la fracción residual (insoluble en metanol, pero soluble en agua) previene la formación del edema a un incremento de volumen de la pata de $297 \pm 22 \mu\text{l}$, es decir un 28% de inhibición de la formación del edema (Figura 17).

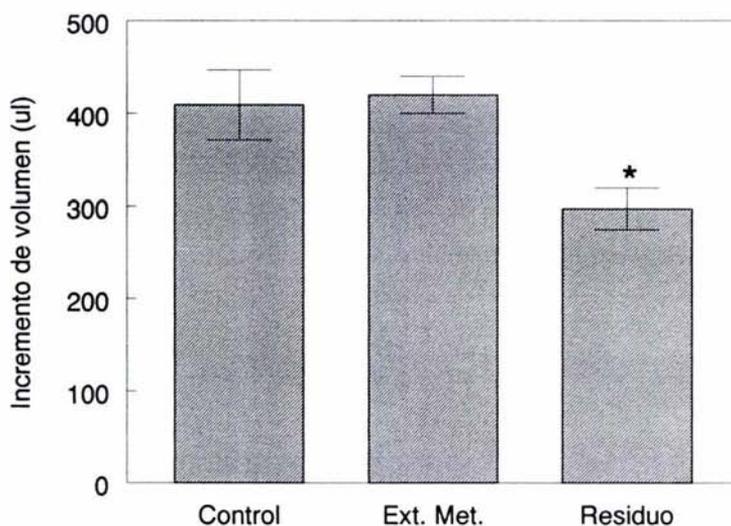


Figura 17.- Efecto de la fracción metanólica y el residuo de *A. reticulata*, ambos en la dosis de 200 mg/kg y solución salina, administrados por vía oral, sobre el edema inducido por 0.1 ml de carragenina al 1% en la extremidad posterior de la rata (n =5, *p<0.05).

Efecto de la fracción residual de *A. reticulata* sobre la migración celular.

En la Figura 18 se muestra el efecto producido por la fracción residual o precipitado de *A. reticulata* sobre la migración de los neutrófilos causada por una irritación de la cavidad peritoneal con carragenina (300 $\mu\text{g}/3\text{ ml}$); se observa que en el control migraron 13, 150 \pm 950 neutrófilos/ mm^3 . La dexametasona (fármaco antiinflamatorio de tipo esteroideal) redujo la migración celular en un 66% (4, 400 \pm 150 neutrófilos/ mm^3), mientras que el la fracción residual de *A. reticulata* en la dosis de 200 mg/kg de peso no redujo la migración de leucocitos a la zona inflamada (13, 500 \pm 650 neutrófilos/ mm^3).

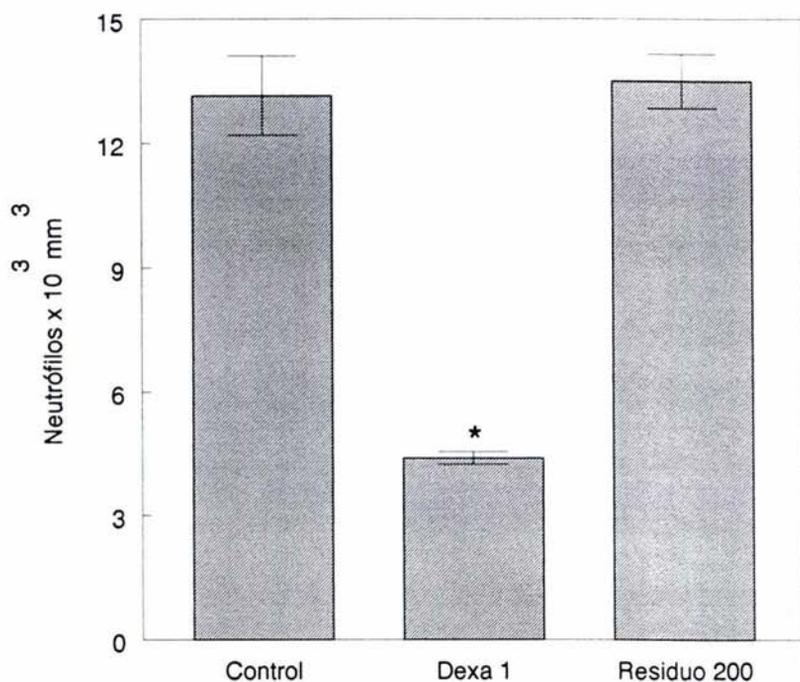


Figura 18.- Efecto de la fracción residual de *A. reticulata* 200 mg/kg, dexametasona 1 mg/kg y solución salina (1 ml), por vía oral, sobre la migración de neutrófilos a la cavidad peritoneal irritada con carragenina (300 $\mu\text{g}/3\text{ml}$) (n =5 , *p<0.05).

DISCUSIÓN.

Efecto del extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata* sobre el edema.

Fue posible establecer la metodología para la evaluación del efecto del extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata* a la dosis de 200 mg/kg sobre el edema causado con carragenina ya que los organismos control mostraron un incremento de volumen. El edema causado con el polisacárido carragenina es iniciado por la liberación de histamina y bradicinina, mediadores químicos de la inflamación que producen vasodilatación y dolor; la inflamación es mantenida por las prostaglandinas también vasodilatadoras y algésicas a las 3 h de la aplicación del polisacárido (Di Rosa, 1972). El antiinflamatorio indometacina inhibió esta inflamación. Los resultados observados con el extracto acuoso muestran la presencia de compuestos con efecto antiinflamatorio ya que previnieron el edema.

El extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata* a la dosis de 300 mg/kg sobre edema causado con carragenina inhibió un 13% la formación. Por lo cual los resultados nos muestran la presencia de compuestos antiinflamatorios.

Efecto del extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata* sobre la migración celular.

El extracto acuoso de *A. reticulata* a la dosis de 300 mg/kg de peso mostró reducción de la migración celular en un 54%, causada por irritación con carragenina en la cavidad peritoneal, este efecto también lo mostró el antiinflamatorio esteroideal dexametasona, el cual inhibe la actividad de la lipooxigenasa que genera leucotrieno B₄, que promueve la migración celular.

Efecto analgésico del extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata*.

Los fármacos antiinflamatorios de tipo no esteroideal también tienen propiedades analgésicas, por lo cual probamos este efecto empleando el modelo de contorsiones en ratones a los que se causó dolor por la aplicación intraperitoneal de ácido acético en el cual está involucrada la generación de prostaglandinas sintetizadas por la enzima ciclooxigenasa (Duarte, 1988). Este dolor lo inhibió la indometacina y también el extracto acuoso de *A. reticulata* a la dosis de 300 mg/kg, corroborando su actividad analgésica.

Inocuidad del extracto acuoso de las hojas de *A. reticulata*.

Al evaluar la toxicidad aguda de una decocción de hojas de *A. reticulata* administrada en ratones(machos) a las dosis de 3 000 (10 veces la dosis terapéutica) y 5000mg(16 veces la dosis terapéutica)/kg no se observaron efectos nocivos ni muerte en un período de 14 días después de la aplicación del extracto.

Efecto de la fracción metanólica y del residuo de las hojas de *A. reticulata* sobre el edema.

Al separar del extracto acuoso las sustancias solubles en metanol y evaluarlas en el modelo de edema se observó que no tiene efecto; la fracción residual (compuestos insolubles en metanol) inhibió en un 20% la formación. Por lo cual, parece ser que el efecto antiedema observado en el extracto acuoso involucra a agentes sinérgicos presentes en la fracción alcohólica pero las sustancias antiinflamatorias son insolubles en metanol, pero requieren de las sinérgicas para una mayor actividad.

Efecto del residuo de las hojas de *A. reticulata* sobre la migración celular.

La fracción residual no mostró inhibición de la migración celular causada por irritación con carragenina en la cavidad peritoneal, efecto que si mostró el antiinflamatorio esteroideal dexametasona, que inhibe la actividad de la lipooxigenasa que genera leucotrieno B₄, que promueve la migración celular. Con lo cual parece ser que los antiinflamatorios presentes en la fracción residual son de tipo no esteroideal (similares a la indometacina) y podrían inhibir la actividad de la ciclooxigenasa que genera prostaglandinas, que son los principales mediadores químicos en la inflamación provocada con la carragenina.

CONCLUSIONES.

El extracto acuoso de las hojas de *Annona reticulata* tiene efecto antiinflamatorio. Porque fue capaz de disminuir la formación de edema inducido con carragenina, al igual que la migración celular al sitio de la lesión.

El extracto acuoso pudo reducir el dolor, esto se observó por el bajo número de contorsiones inducidas con el ácido acético.

El análisis de toxicidad aguda nos indica que el extracto acuoso de *Annona reticulata* no presenta efectos nocivos.

El fraccionamiento del extracto acuoso muestra que la fracción metanólica no tiene efecto antiinflamatorio, sin embargo la fracción residual si mostró el efecto.

Los resultados permiten expresar que el extracto acuoso de las hojas *Annona reticulata* tiene efectos antiinflamatorio y analgésico. Además de tener estas propiedades, también se reportan compuestos citotóxicos para el tratamiento del cáncer; el extracto etanólico-acuoso de las partes aéreas de la planta tiene actividad antiespasmódica. Lo cual contribuye a apoyar el uso medicinal que las personas de la región le dan a las hojas de este árbol en el tratamiento de algunos padecimientos que involucran procesos inflamatorios. Por eso es necesario realizar más estudios para conocer su valor terapéutico y poderlos aprovechar.

Por lo anterior se considera que las plantas constituyen una fuente de singular importancia y un enorme recurso para la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, por lo cual se debe fomentar el interés por investigar sus propiedades.

BIBLIOGRAFÍA

Argueta, V.A., Cano, A.L. y Rodarte, M.E. (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. Vol. III. 1407,1408.

Barnes, P.J. and Adcock, L. (1993). Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. *Tips*. 14: 436-441.

Bowman y Rand. (1984). Bases Bioquímicas y Patológicas. Ed. Interamericana. 2a. ed. 13.1- 13.29.

Cassady J. M., Baird W. M. y Chang C. J. (1990). Natural products as a source of potential cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *Journal of Natural Products*, 53 (1) : 23-41.

Cotran, R. S., V. Kumar, S. L. Robbins, F. J. Schoen (1995). Patología estructural y funcional. 5° Ed. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana de España, Madrid. Pag. 57-104.

Díaz, J. L. (1976). Edición facsimilar. Índice y Sinonimia de las Plantas Medicinales de México. Instituto de Invetigaciones Biomédicas de la UNAM. IMEPLAN. México pp.30.

Di Rosa, M. (1972). Biological properties of carrageenan. *J. Pharm. Pharmac.* 24, 89-102.

Domínguez, X. A. (1979). Fundamentos de investigación fitoquímica. Ed. Limusa. México.

Duarte. I.D, Nakamura M, Ferreira S.H. (1988). Participation of the sympathetic system in acetic acid-induced writhing in mice. *Braz J Med Biol Res* 21(2):341-3.

Guyton, C. A. (1997). Tratado de Fisiología Médica. 9a edic. Ed. Interamericana. 477-497.

Hardman, J. G. y Col. (1996). Las Bases Farmacológicas de la terapéutica. 9a ed. Ed. Panamericana. 1:619-731.

Heinrich (2000). Ethnobotany and its role in drug development. *Phytother. Res.* 14: 479-488.

Higgs, G. A., Salmon, J. A., Henderson, B. y Vane, J. R. (1987). Pharmacokinetics of aspirin and salicylate in relation to inhibition of arachidonate cyclooxygenase and antiinflammatory activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84: 1417-1420.

Koster, R., Anderson, M., And De Beer, E. J., 1959. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings* 18, 412-416.

Martínez, M. (1961). Edición facsimilar. Las plantas medicinales de México. Edit. Botas. México. pags. 291-347.

McCance, K. L. y S. E. Huether (1998). Pathophysiology. The biologic basic for disease in adults and children. 3a ed., Ed. Mosby, Nueva York: 205-236.

Morton, J. 1987. In: Fruits of warm climates. Custard Apple. p. 80–83. Miami, FL.

Musacchio, H. (1990). Diccionario enciclopédico de México. Ed. Andrés León. México, D.F.

Roitt, I., J. Brostoff, D. Male (1998). Immunology. 5a ed. Mosby, New York: 61 –69.

Sacca, R. A Cuff, C. y H. Ruddle (1997). Mediators of inflammation. *Current Opinión in Immunology* 9: 851-857.

Stevens, A. y Lowe, J. (1996). Texto y atlas de Anatomía patológica. Ed. Mosby/Doyma. España. Pag. 57-71.

Souza, G. E. P. y S. E. Ferreira (1985). Blockade by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity. Agents and Action 17: 97-103.

Van Arman, C. G., Begany, L. M. (1965). Some details of inflammations caused by yeast and carrageeneen Exper. Therap. 150: 328.

Winter, C. A., E. A. Risley y G. M. Nuss (1962). Carragenin induced o edema in hind paw of the rats as an assay for antiinflammatory drugs. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine (New York) 11: 544-547.

Zamora, N. 1989. Flora arborecente de Costa Rica: especies de hojas simples. Editorial Tecnológica de Costa Rica. 262 p.