

## **Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Senecio confusus***

Brenda Alvarado, Abigail Reyes, Jesús Castillo, Martha Maldonado.

B. Alvarado, A. Reyes, J. Castillo y M. Maldonado.

Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca. Romualdo del Campo No. 501. Fracc. Rafael Curiel, Cd. Valles, S.L.P. C.P. 79060.

Universdiad Carretera Rioverde - San Ciro Km. 4. Colonia Puente del Carmen, Rioverde, S. L. P.  
abigail.reyes@uaslp.mx

M. Ramos., V.Aguilera., (eds.).Ciencias Naturales y Exactas, Handbook -©ECORFAN- Valle de Santiago, Guanajuato, 2014.

## Abstract

Senecio confusus infusion is used in traditional medicine for the treatment of strokes and muscle aches. However, there has been studied the effect of this plant in the control of inflammation, in this study the antiinflammatory ability of this specie was assessed in a mouse model of inflammation induced by carrageenin. Two doses (5 and 10 mg/kg) of the aqueous extract of *S. confusus* were tested, water and indomethacin were used as controls. For this experiment, Wistar rats were used and swelling measurements were performed with a digital plethysmometer. The percent inhibition observed shows that the dose 10 mg/kg had greater antiinflammatory activity in the first hour, whereas the dose of 5 mg/kg had a higher anti-inflammatory activity. However, these doses show less effect of the obtained by indomethacin treatment. However observing the digestive tissue of animals after treatment, greater damage was observed in rats treated with indomethacin. So although the *S. confusus* extract showed less antiinflammatory effect at the doses used, causes less damage to the organism.

## 18 Introducción

En el cuerpo humano es común sufrir golpes y lesiones, sin embargo éste tiene la capacidad de sanarse por sí solo empleando su principal mecanismo de defensa, por lo que presentar inflamación en el área afectada ayudará con el proceso reparador del cuerpo mientras se desarrolla la respuesta inmune adaptativa.

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células por cualquier agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica (García, 2008). En ella participan numerosas células del sistema inmunitario y mediadores, se suele acompañar por enrojecimiento, calor, tumefacción y dolor. Si bien el desarrollo del proceso inflamatorio representa una función de primer orden en la defensa del cuerpo, en ocasiones transcurre hacia una situación crónica que suele ser dañina, en donde el agente inflamatorio persiste por la incapacidad de un sistema inmunitario deficiente. Al persistir este proceso puede ocurrir la pérdida de la función del órgano afectado y dar lugar a enfermedades degenerativas.

Para contrarrestar el proceso inflamatorio se utilizan diversos tratamientos, como antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos (AINE's) (Delves, 2008). Los AINEs son los más empleados a nivel mundial por lo que ya se han estudiado, observando riesgos en la seguridad cardiovascular, gastrointestinal y renal (Prieto, 2007). Debido a ello es de gran importancia la búsqueda de nuevas alternativas.

El uso de plantas medicinales sugiere una excelente opción para el control de la inflamación, debido a las diversas propiedades observadas, como el gran contenido de flavonoides y otros compuestos. En la región Huasteca se emplea de manera tradicional la planta *Senecio confusus* para reducir la inflamación en el área afectada. Por lo anterior en esta investigación se evaluó la capacidad antiinflamatoria de dicha planta en un modelo murino de inflamación por carragenina, con el propósito de determinar su efectividad para el tratamiento del proceso inflamatorio, lo que permitiría fundamentar su uso en el control de este fenómeno evitando daños en el organismo.

### 18.1 Materiales y métodos

#### Preparación del extracto

Se recolectaron aproximadamente 500 g de las hojas de *Senecio confusus* en el mes de julio del 2013 en Cd. Valles, S.L.P.

El extracto acuoso de *S. confusus* se obtuvo por extracción sólido-líquido, empleando las hojas de esta planta y agua desionizada a 90° C por 3 minutos, para ello se utilizaron 250 g de las hojas de *Senecio confusus*, las cuales se limpiaron y se escaldaron durante 3 minutos en 750 ml de agua, con el fin de detener la acción enzimática de la planta. Enseguida se sometieron a choque de agua fría, y se realizó la prueba de guayacol con la finalidad de verificar la efectividad del escaldado. Finalmente el extracto se filtró, evitando la exposición a la luz y se concentró en un evaporador rotatorio (BUCHI RIII, Suiza) al 30%.

### Animales de experimentación

Para evaluar el efecto antiinflamatorio de *Senecio confusus* se trabajó con ratas Wistar hembra, de 6 a 8 semanas de edad, con un peso promedio de 160 g. Se mantuvo a los animales en ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, acceso libre a comida y agua y temperatura controlada de 22-25°C. Las ratas fueron divididas en 4 grupos de acuerdo a los tratamientos dados.

### Tratamiento

Los animales se pretrataron de acuerdo al grupo al que pertenecían, cada uno compuesto por 3 ratas. Un grupo con administración oral de extracto de *Senecio confusus* de una dosis de 5 mg/kg de peso, un grupo con una dosis de 10 mg/kg de extracto de *S. confusus*. El grupo control positivo, al cual se le administró el antiinflamatorio Indometacina (2 mg/kg). Finalmente se contó con un grupo control negativo, al que sólo se le administró agua desionizada.

### Modelo de inflamación por carragenina

Una hora después de la administración inicial del tratamiento, se indujo la inflamación por carragenina al 1% (0.5µl) (Winter et al, 1962) en la región subplantar de la pata derecha de los ratones. Para ello se aplicó una inyección subcutánea de carragenina al 1% en solución salina, en una dosis de 20 µg por cada gramo de peso del ratón, mientras que en la región subplantar izquierda se administró el vehículo. Posteriormente se suministraron los tratamientos cada 12 horas por una semana.

### Evaluación del proceso inflamatorio

Para determinar el grado de inflamación, se utilizó un pletismómetro digital (UGO BASILE), el cual midió el volumen del cojinete plantar del ratón. Esta medida se tomó durante 6 horas en intervalos de 30 minutos a partir de la inoculación de la carragenina (marca Sigma, USA). Se aplicó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de inhibición de la inflamación.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(C_t - C_0)_{\text{Control}} - (C_t - C_0)_{\text{Tratada}}}{(C_t - C_0)_{\text{Control}}} \times 100 \quad (18)$$

Donde  $C_t$  es el volumen de la pata al tiempo "t" después de la inyección de la carragenina,  $C_0$  es el volumen normal de la pata antes de la inyección de carragenina.

Análisis macroscópico del tejido digestivo de los animales de experimentación.

Después de una semana de tratamiento las ratas de cada grupo fueron sacrificadas para observar muestras del tejido, con la finalidad de verificar si existió la presencia de ulceraciones en el tracto digestivo del animal. La cantidad de ulceraciones se evaluó en una escala de 0 a 4 cruces (+). En donde una cruz (0-2 úlceras), dos cruces (3-5 úlceras), tres cruces (6-10), 4 cruces (11-20).

## **Análisis estadístico.**

Para la evaluación de la inflamación se capturaron los datos en el programa Excel para generar los gráficos y la estadística descriptiva. Se revisaron los criterios de normalidad en los datos generados. Se utilizó la prueba ANOVA para determinar diferencias entre los grupos, tomando como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## **18.2 Resultados y discusión**

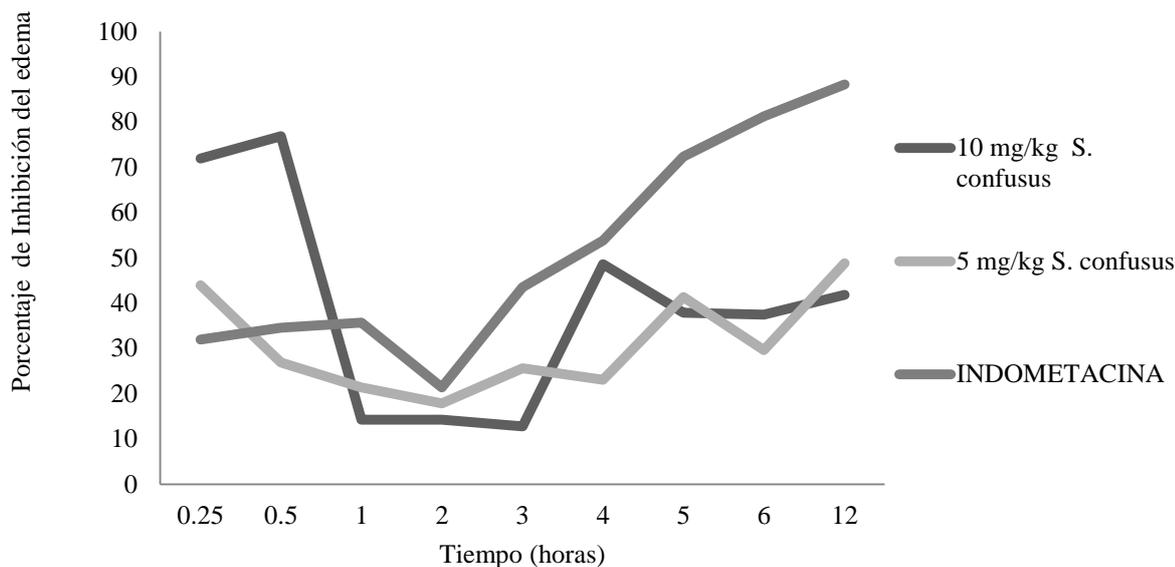
### **Evaluación de la actividad antiinflamatoria de Senecio confusus**

Se ha observado que son numerosas las patologías que han sido asociadas al estrés oxidativo, entre ellas están las enfermedades inflamatorias crónicas. Todas ellas involucran reacciones de oxidación que implican la transferencia de electrones que producen radicales libres, uno de los beneficios atribuidos a los antioxidantes es el control de la inflamación.

Por lo anterior se llevó a cabo la evaluación de la capacidad antiinflamatoria de la planta *Senecio confusus* en un modelo murino de inflamación por carragenina. Está demostrado que la carragenina es un buen inductor de la inflamación, en diversos modelos experimentales con animales, en este caso un modelo murino (Gaytán et al 2010; González et al 2011), es por ello que se utilizó éste para evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto de la planta *Senecio confusus*. En este estudio se utilizó el modelo murino de inflamación del cojinete plantar inducido por carragenina. Para lo cual se comprobó la eficiencia de la carragenina contra el agua desionizada, en un modelo murino en ratones hembra Wistar, la eficiencia de la carragenina para la inducción de la inflamación coincide a lo comprobado por Gaytán et al en 2010.

Una vez corroborada la acción y eficacia de la carragenina para la inducción de inflamación, se llevaron a cabo los ensayos para determinar la actividad antiinflamatoria del extracto de *S. confusus*. Para ello se integraron grupos de 3 ratas Wistar hembras de la siguiente manera; un grupo control positivo pretratado con indometacina (20 mg/kg de peso de la rata), un grupo control negativo tratado con agua desionizada, y dos grupos a los que se les suministraron dosis de 5 ó 10 mg/kg del extracto acuoso de *Senecio confusus*. Posteriormente se indujo la inflamación por carragenina al 1% en el cojinete plantar derecho del animal, para finalmente medir la inflamación al minuto 0, 15 y 30, enseguida cada hora durante 6 horas y a las 12 horas y calcular el porcentaje de inhibición de la inflamación con la fórmula no. 1, descrita en la metodología.

Esto permitió evaluar el efecto antiinflamatorio del tratamiento con *Senecio confusus* versus indometacina. En la Figura 1 se muestra el porcentaje de inhibición de la inflamación en la fase aguda. En esta figura se observa un mayor efecto del extracto de 10 mg/kg *S. confusus* en la primera hora de tratamiento alcanzando un efecto antiinflamatorio de 76.92% ( $\pm 3.5$ ) de inhibición. Posteriormente desciende este efecto a 15% ( $\pm 0.84$ ) en las siguientes dos horas y finalmente aumenta a partir de la cuarta hora manteniendo valores cercanos a 46% ( $\pm 8$ ). Mientras que el tratamiento de *Senecio confusus* de 5 mg/kg mantiene valores de 20% hasta 48.80% de inhibición del edema desde las cero hasta las 12 horas de tratamiento. Sin embargo el control positivo de indometacina mostró un porcentaje de inhibición del edema de 35% ( $\pm 6.5$ ) en las primeras dos horas, alcanzando un 88% ( $\pm 18$ ) en las horas restantes. Lo cual indica que hay una diferencia significativa de  $< 0.0001$  entre el efecto de la indometacina con las dosis (5mg/kg y 10mg/kg) del extracto de *Senecio confusus*, y en lo que refiere la comparación entre las dos dosis empleadas no hubo diferencia significativa de  $p = < 0.3268$ .

**Grafico 18** Inhibición de la inflamación aguda mediada por *Senecio confusus*.

González et. al., en la revista de Biosalud del 2011 consideran como actividad antiinflamatoria moderada la inhibición del edema del 30 al 65% y como buen efecto antiinflamatorio un valor mayor de 65%, sin embargo en sus experimentos no se obtuvo actividad antiinflamatoria significativa sobre el modelo de edema plantar por carragenina en ninguna de las plantas empleadas (*Calea prunifolia*, *Curatella americana*, *Myrcianthes leucoxila* y *Physalis peruviana*).

De acuerdo a lo anterior se puede observar que la dosis de 10 mg/kg muestra un buen efecto en la primera hora, mientras que el tratamiento con 5 mg/kg mantiene en toda la cinética un efecto antiinflamatorio moderado.

En tanto que el tratamiento con Indometacina al comienzo del experimento muestra un efecto antiinflamatorio moderado en las primeras dos horas hasta llegar a un buen efecto antiinflamatorio en las horas restantes.

En el estudio realizado por Gaytán y Zúñiga (2010) “Valoración del efecto antiinflamatorio de *Larrea tridentata* en un modelo murino de inflamación por carragenina” en el cual se trabajó con un extracto etanólico de *Larrea tridentata* y con el medicamento nimesulida, se observó un menor efecto antiinflamatorio en los grupos tratados con *L. tridentata* que con el medicamento, lo cual coincide con el experimento llevado a cabo con *Senecio confusus*.

Este menor efecto es debido a que las plantas poseen una gran variedad de compuestos biológicamente activos, por lo que se deben aislar y encontrar los principios o compuestos activos principales esto mediante distintos métodos químicos de separación. De la misma forma observaron que la dosis más alta empleada en dicho experimento tiene mayor efecto en las primeras horas, sin embargo no muestra potencial antiinflamatorio, mientras que la dosis baja va aumentando su efecto en las primeras horas y muestra un efecto antiinflamatorio superior, pero no es comparable al ejercido por el medicamento usado como control.

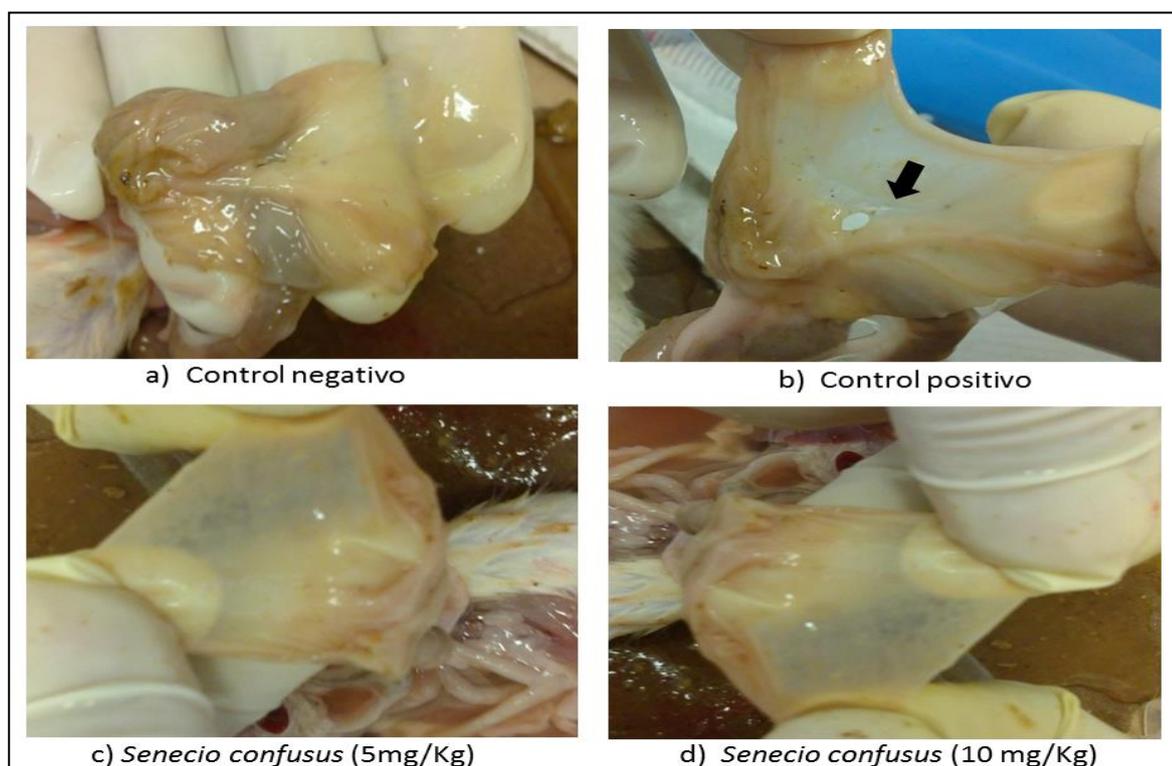
Por lo anterior Gaytán y Zúñiga en 2010 concluyeron que este efecto pudo deberse a la hormesis (efecto de estimulación a bajas dosis y de inhibición a altas dosis). Lo anterior es similar a lo ocurrido con los resultados obtenidos en el experimento llevado a cabo con la planta *Senecio confusus*.

Los antiinflamatorios no esteroideos son los fármacos más empleados en el mundo para el tratamiento de la inflamación, no obstante se ha comprobado que su uso coincide con complicaciones del yeyuno, íleon y colon, enfermedad inflamatoria intestinal, enteropatía con pérdida de proteínas, hemorragia gastrointestinal, úlceras, perforación, estenosis, entre otras (Rocha et al, 2007).

Debido al riesgo gastrointestinal y renal que se ha observado por el uso de AINEs, es conveniente medir el grado de afectación del tracto gastrointestinal de las sustancias que se pretendan emplear como antiinflamatorios. Una forma de medir el daño fue la observación de perforaciones en el estómago de los animales tratados, por lo cual se realizó la evaluación macroscópica del tejido digestivo posterior a la administración del tratamiento cada 24 horas durante una semana. En la Figura 2 se muestra el interior del estómago de las ratas de cada grupo, se observó mayor daño en las ratas tratadas con indometacina (++++). Asimismo al abrir y evaluar el estómago de éstas se percibieron olores característicos de putrefacción, lo cual no se observó en el tejido de las ratas control negativo, ni en las dosis de 5 y 10 mg/kg de *Senecio confusus* (-).

**Figura 18** Observación macroscópica del estómago de las ratas tratadas.

a) control negativo (tratada con agua desionizada), b) control positivo (tratada con Indometacina), c) tratamiento con *Senecio confusus* (5mg/kg), d) tratamiento con *Senecio confusus* (10mg/kg).



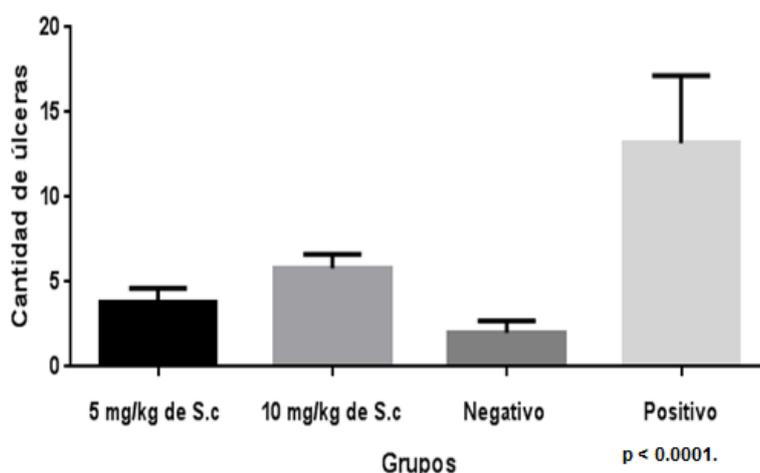
En el experimento llevado a cabo por Pérez (2011) “Separación y evaluación del efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg”, se encontró que en el estómago y duodeno de las ratas tratadas con la solución de NaHCO<sub>3</sub> 5%, no se presentó ningún tipo de irritación.

Asimismo no se observó la presencia de úlceras, a diferencia de las ratas tratadas con indometacina, en las que se observaron zonas de enrojecimiento en la mucosa gástrica y presencia de erosiones en el duodeno. En algunos casos, se observó que los intestinos estaban sumamente adelgazados en el grupo tratado con indometacina, al grado de romperse con facilidad al ser removidos de los cuerpos.

Mientras que en los grupos tratados con las plantas utilizadas no se observó ningún signo de irrigación o ulceración en el tracto gastrointestinal y el comportamiento fue similar al grupo testigo. Este daño gastrointestinal presente con el grupo tratado con indometacina concuerda por lo nombrado por el Catálogo de medicamentos genéricos intercambiables para farmacias y público general de la SSA (2007), que indica que la indometacina puede provocar diversos efectos secundarios como el desarrollo de úlceras simples o múltiples, perforación gastrointestinal y hemorragia esofágica, gástrica, duodenal o intestinal.

Lo anterior concuerda con el experimento llevado a cabo con el extracto de *Senecio confusus*, en donde las ratas tratadas con las dosis de 5 y 10 mg/kg de dicho extracto mostraron un comportamiento similar al grupo control negativo (tratadas con agua desionizada), sin embargo sí se observó la formación de pequeñas úlceras (media=6 ±1.31) (figura 3) no obstante, la cantidad de úlceras observadas no es comparable al número de úlceras manifestado en las ratas tratadas con indometacina (media=13± 3.96).

**Figura 18.2** Cantidad de úlceras observadas en el tejido digestivo de los animales de experimentación en los diferentes grupos. (S.c: *Senecio confusus*, Negativo: control tratado con agua desionizada; Positivo: tratamiento con indometacina)



Debido a que en el grupo control negativo también se observaron ulceraciones, estas pudieron ser provocadas por algún otro factor ajeno a los tratamientos, como el estrés, esto concuerda con lo reportado por Zhan et al 2002, quien describe que a mayor estrés se presenta un incremento de la acidez del jugo gástrico.

La diferencia entre el número de ulceraciones entre el grupo tratado con indometacina y los grupos de las dosis del extracto (5mg/kg y 10mg/kg) así como el control negativo (agua), fue significativa con un valor de menor de  $p = < 0.0001$ .

Se observó daño a los intestinos y adelgazamiento de la mucosa gástrica solamente en este grupo, por lo que se puede dilucidar que el medicamento ocasionó un daño considerable como lo reportado por Ramos et al en 2004, el cual encontró lesiones intestinales como pérdida de la mucosa, hiperemia y presencia de múltiples úlceras lineales y circulares.

### 18.3 Conclusiones

Este estudio tuvo como objetivo valorar la capacidad antiinflamatoria de la planta *Senecio confusus* en un modelo murino de inflamación por carragenina. Las pruebas determinaron que el extracto acuoso de *S. confusus* posee buena actividad antiinflamatoria, aunque menor a la ejercida por indometacina.

Pese a lo anterior, el extracto de *S. confusus* mostró ser menos agresivo con la mucosa gástrica comparado con indometacina.

Esto sugiere que a pesar de que el tratamiento con *Senecio confusus* muestra menor capacidad antiinflamatoria, ocasiona menor daño en el organismo.

De acuerdo a los resultados de esta investigación, se sugiere que *S. confusus* puede llegar a ser una alternativa para el tratamiento de procesos inflamatorios.

### 18.4 Agradecimientos

Se agradece el apoyo técnico del Bq. Juan del Toro Herrera y Bq. Carolina E. Gil Solís, en la capacitación para el manejo de equipos y metodologías utilizadas en este proyecto.

### 18.5 Referencias

Delves, P.J., Martin, S. J., Burton, D. R., Roitt, I. M. (2008). *Inmunología fundamentos*. (11<sup>a</sup>) Ed. Médica Panamericana. Argentina.

García, B. P. (2008). *Inflamación*. Real Academia de Ciencias exactas .Fis.Nat. Vol.102.

Gaytán, A. J., Zúñiga, B. (2010). *Valoración del Efecto Antiinflamatorio de Larrea Tridentata en un Modelo Murino de Inflamación por Carragenina*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Unidad Académica Multidisciplinaria Campus Huasteca.

González, G. M.C., Ospina, G. L.F., Rincón, V.J. (2011). *Actividad Antiinflamatoria de Extractos y Fracciones de Myrcianthes Leucoxila, Calea Prunifolia, Curatella Americana y Physalis Peruviana en los Modelos Edema Auricular por Tpa, Edema Plantar por Carragenina y Artritis Inducida por Colágeno*. *Biosalud*, Volumen 10(1): 9-18.

Pérez. S.S. (2011). *Separación Y Evaluación Del Efecto Antiinflamatorio y Antioxidante de los Flavonoides De Eysenhardtia Polystachya (Ort.) Sarg*. Instituto Politécnico Nacional.

Prieto, J.M. (2007). *Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs). ¿Dónde estamos y hacia dónde nos dirigimos? (Primera Parte)*. *Cient Dent* , 4;3:203-212.

Ramos,A., Angulo,H., Chavera,C., Ayón, S.(2004). *Propuesta de un modelo experimental de enteritis aguda inducida por indometacina en ratas albinas*.*Arev inv vet Perú*,15 (1): 37-43.

Rocha, J.L., Parrado, M, J.W., Rojas, I, M., Sierra, M, E., Soto, Q, R., Fernández, R, J.M. (2007). *Daño intestinal por antiinflamatorios no esteroideos*. *Rev Gastroenterol Mex*; 75(2): 288-318.

Winter, C.A., E.A. Risley, E. A., Nuss, C.W. (1962). *Carrageenin-induced edema in hind paw of rats: an assay for anti-inflammatory drugs*. *Proceedings of Society Experimental Biology Medicine*.