

# **EFFECTO ANTINOCICEPTIVO Y ANTINFLAMATORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE ACACIA FARNESIANA EN UN MODELO DE DOLOR INFLAMATORIO**

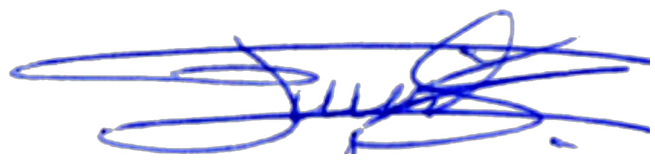
**UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS LICENCIATURA  
EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**Alumno: Hebert Iván Martínez Valencia**



**Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha**



**Dr. Osmar Antonio Jaramillo Morales**

# Índice

1. Marco teórico
  - 1.1 Marco teórico
    - 1.1.1 Epidemiología del dolor
    - 1.1.2 Definición del dolor
    - 1.1.3 Clasificación del dolor
    - 1.1.4 Neurofisiología del dolor
    - 1.1.5 Traducción
    - 1.1.6 Transmisión
    - 1.1.7 Modulación
    - 1.1.8 Percepción del dolor
    - 1.1.9 Proceso Inflamatorio
    - 1.1.10 Terapéutica del dolor
    - 1.1.11 AINE
    - 1.1.12 Mecanismo de acción
    - 1.1.13 Efectos adversos
  - 1.2 *Acacia Farnesiana*
    - 1.2.1 Origen
    - 1.2.2 Distribución geográfica
    - 1.2.3 Sinonimia
    - 1.2.4 Nombres comunes en México
2. Planteamiento del problema
3. Justificación
4. Hipótesis
5. Objetivo
  - 5.1 Objetivo general
  - 5.2 Objetivo específico
6. Materiales y métodos
  - 6.1 Origen y tratamiento del extracto
    - 6.1.1 Colecta y manejo de material vegetal
    - 6.1.2 Obtención del extracto crudo
    - 6.1.3 Tratamiento del extracto
  - 6.2 Animales
  - 6.3 Evaluación del efecto antinociceptivo
  - 6.4 Diseño experimental
  - 6.5 Evaluación estadística
7. Resultados
8. Discusión
9. Conclusión
10. Bibliografía

## **1. Introducción**

### **1.1 Marco teórico**

#### **1.1.1 Epidemiología del dolor**

El dolor crónico es un problema de salud entre la población debido al impacto que causa en la calidad de vida de las personas. Esto no solo llega a provocar incapacidad para llevar a cabo las actividades diarias, sino que también repercute en el estado mental de las personas que lo padecen ocasionando comorbilidad con afecciones del sistema nervioso central como la depresión y la ansiedad, entre otras [1]. Pacientes con este problema, llegan a hacer uso de los servicios de salud hasta cinco veces más que personas sin este problema. Lo anterior suscita que la cifra destinada para gastos médicos aumente [2].

La prevalencia del dolor crónico varía de acuerdo a los diferentes autores estimándose en un rango del 7% hasta un 80% [3] dependiendo de su etiología y la población estudiada.

#### **1.1.2 Definición del dolor**

El dolor es definido por la Asociación Internacional para el Estudio del dolor (IASP, por sus siglas en inglés) como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular o potencial descrito en términos de dicho daño [4]. Dicho en otras palabras, el dolor tiene un componente cognitivo y se describe en términos de sufrimiento.

#### **1.1.3 Clasificación del dolor**

La nocicepción se refiere al proceso fisiológico que causa dolor y comprende los procesos de transducción, conducción, transmisión y percepción. El dolor es una sensación fisiológica vital y un sistema de alarma que anuncia la presencia de estímulos potencialmente dañinos [5]. Hay diferentes clasificaciones de dolor que hacen referencia a su duración, patogenia, curso, fisiopatología y según su respuesta a los fármacos.

- Según la duración, se divide en:
  - Agudo: Producido por estímulos somáticos o viscerales, aparece abruptamente y es de corta duración.
  - Crónico: Dolor persistente, cualquiera que sea su intensidad, dura más de un mes.
- Según su patogenia:
  - Dolor nociceptivo: Se da como respuesta a una lesión tisular que activa receptores específicos de dolor llamados nociceptores. Los nociceptores son sensibles a estímulos nocivos como frío, calor, vibración, estiramiento y/o sustancias químicas liberadas por tejidos en respuesta a falta de oxígeno, destrucción de tejidos o inflamación.
  - Dolor neuropático: Causado por el daño estructural y la disfunción de las neuronas del Sistema Nervioso Central (SNC) o periférico. Ya sea por invasión directa del tumor o por infecciones en un paciente debilitado.

- Según el curso:
  - Continuo: persistente a lo largo del tiempo y no desaparece.
  - Irruptivo: dolor moderado o intenso que aparece sobre el dolor crónico. Puede comenzar inesperadamente o de forma previsible.
  
- De acuerdo a su fisiopatología:
  - Dolor somático: Efecto por activación de nociceptores presentes en tejidos superficiales o en tejidos profundos tales como huesos, articulaciones, musculo o tejido conectivo.
  - Dolor visceral: Producidos por activación de nociceptores localizados en viseras, debido a la infiltración, distensión o compresión de órganos en el tórax o cavidad abdominal.
  
- Según a su respuesta a fármacos.
  - Responde un opiáceos. dolores viscerales y somáticos.
  - Parcialmente sensible a los opiáceos. dolor óseo y dolor por compresión a nervios periféricos.
  - Escasamente sensible a opiáceos: Dolor por espasmos de la musculatura estriada y el dolor por infiltración y destrucción de nervios periféricos (éste es conocido como dolor disfuncional y solo responde a antidepresivos o anticonvulsivantes)

#### **1.1.4 Neurofisiología del dolor**

La transmisión de estímulos nociceptivos sufre una compleja modulación desde el impulso nervioso a nivel periférico hasta la percepción como sensación dolorosa. Los estímulos dolorosos son transducidos a través de potenciales de acción en neuronas especializadas llamadas nociceptores, los cuales tienen una gran variedad de receptores sensibles a estímulos térmicos, mecánicos y químicos, por esta razón son llamados polimodales [6]. Su principal función es diferenciar los estímulos inocuos de los lesivos. Histológicamente son terminaciones periféricas de las neuronas bipolares que tienen su soma en los ganglios raquídeos y cuyo axón penetra en el asta dorsal de la médula espinal. Existen también un grupo de nociceptores denominados silentes o dormidos, normalmente no son activados por estímulos mecánicos y se vuelven activos durante la inflamación, al exponerse al factor de crecimiento nervioso (NGF), un mediador de la inflamación, contribuyendo así a la hiperalgesia [7].

#### **1.1.5 Traducción**

Los nociceptores responden a diferentes estímulos térmicos, mecánicos o químicos y canales iónicos específicos o receptores acoplados a proteínas G que están involucrados en la conversión del estímulo señales eléctricas. Estos canales generan una corriente eléctrica a través de apertura, permitiendo la entrada de iones  $\text{Na}^+$  o  $\text{Ca}^{2+}$  o cerrando el canal si este es responsable de la entrada de algún ion hiperpolarizante. Es en las fibras nerviosas donde se inicia la despolarización y la transmisión de los impulsos dolorosos hacia la médula [8].

Las fibras nerviosas de 2 tipos:

Las fibras A- $\bar{0}$  que son mielínicas, su diámetro va de 1-5  $\mu\text{m}$ , su velocidad de conducción es rápida de media entre 4 a 30  $\text{ms}^{-1}$ . Conducen señales de dolor de corta latencia que precisan respuestas rápidas.

Las fibras C son amielínicas, su diámetro es de 0.3 a 1.5  $\mu\text{m}$ , su velocidad de conducción es lenta entre 0.4 a 2  $\text{ms}^{-1}$ . Transmiten estímulos nociceptivos térmicos, mecánicos y químicos e informan sensaciones de dolor de latencia más larga [9].

### 1.1.6 Transmisión

Se refiere a la propagación de los potenciales de acción, que viajan desde las terminales periféricas a lo largo de los axones a la terminal central de nociceptores en el SNC [10]. La señal periférica es transmitida a la médula espinal, luego al tálamo y finalmente a la corteza cerebral. Las fibras nerviosas aferentes viajan en el tracto de Lissauer, el cual está localizado en la sustancia gris del asta dorsal espinal, el cual está dividido en seis capas o láminas, cada una de las cuales recibe fibras aferentes nerviosas de tipos específicos. La vía más importante para el ascenso de señales aferentes de dolor de la médula espinal a la corteza es el haz espinotalámico y se subdivide en: neoespinotalámico y paleoespinotalámico. La función del haz espinotalámico es discriminar entre diferentes aspectos del dolor: localización, intensidad y duración. Las neuronas de segundo orden en el asta dorsal de la médula espinal tienen la capacidad de cambiar su patrón de respuesta en circunstancias de descarga sostenida de las fibras aferentes [11].

### 1.1.7 Modulación

La liberación de neurotransmisores como sustancia P y glutamato (GLU) transmiten la señal de la periferia a los nociceptores aferentes. El GLU es el neurotransmisor que interacciona de manera importante con receptores aminoácido excitatorios NMDA y no NMDA. La sustancia P, interactúa con receptores acoplados a proteínas G para producir corrientes sinápticas lentas y más sostenidas que el GLU y el factor neurotrófico actúan sobre el receptor tirosinasa para modificar la excitabilidad de la membrana.

La sensibilización central contribuye al fenómeno de hiperalgesia y alodinia. Los receptores opioides que se encuentran en las terminaciones nerviosas periféricas, al ser activado por opioides endógenos o exógenos inhibe el haz aferente. De ese modo la morfina actúa sobre el receptor opioide  $\mu$ , promueve la apertura de canales  $\text{K}^+$ , que da lugar a la carga negativa intracelular, la cual hiperpolariza al nociceptor, resultando en una disminución de la actividad del nociceptor: analgesia.

Las endorfinas activan el sistema descendente. Dicho sistema se activa alrededor de la sustancia gris periacueductal del mesencéfalo. Neuronas en esta región se proyectan a la información reticular medular y al *locus coeruleus*, donde se produce serotonina y norepinefrina respectivamente. Las fibras descendentes se proyectan hasta el funiculus dorsolateral del asta dorsal de la médula espinal para la sinapsis con la neurona aferente primaria. Las neuronas moduladoras descendentes del dolor liberan neurotransmisores en la médula espinal, activan interneuronas que liberan opioides en la asta dorsal espinal [12].

### 1.1.8 Percepción del dolor

Es el proceso final en el que la transducción, la transmisión y la modulación interactúan con una serie de otros fenómenos individuales, creando la experiencia subjetiva y emocional denominada dolor [13].

### 1.1.9 Proceso inflamatorio

Enfermedades y lesiones a menudo resultan en dolor que no se explica únicamente por la transducción de estímulos nociceptivos, sino también resultado de la generación de factores endógenos que pueden activar terminaciones nerviosas, esto comprende un proceso llamado inflamación. [14].

Calor, rubor, dolor y edema son los signos característicos de la inflamación y pueden ser de diferente naturaleza dependiendo de la causa, como son la presencia de agentes químicos o físicos, traumatismo, necrosis, microorganismos patógenos o reacciones inmunitarias [15]

El reclutamiento de macrófagos en la zona dañada se da por un proceso de quimiotaxis. En este proceso las células son atraídas al sitio dañado, por un gradiente de concentración de una molécula atrayente como son la IL-8, C5a, histamina, leucotrieno (LT), lipopolisacáridos, restos de fibrina o colágeno. Las células tisulares (cebadas, queratinocitos, fibroblastos) adyacentes a la zona lesionada son las primeras en llegar, son activadas y promueven la inflamación. [16].

La Vasodilatación permite que aumente la permeabilidad y por tanto se produzca un edema. Las células que coadyuvan en el proceso inflamatorio son los mastocitos que se encuentran en tejidos periféricos y liberan histamina, bradicinina, eicosanoides y serotonina. Estas aumentan el flujo de sangre al área inflamada, lo cual aumenta la temperatura y produce enrojecimiento local. También participan algunos mediadores como son las citocinas, estas se encuentran en el citoplasma y su papel es indispensable ya que liberan sustancias que generan la inflamación. La infiltración de las células sanguíneas es esencial durante el proceso inflamatorio. Conforme transcurre el tiempo y se va dando la inflamación, el dolor a menudo evoluciona y se presenta la hiperalgesia, esto significa que hay un aumento del dolor al estimularse el área afectada. Del mismo modo el umbral de dolor disminuye, esto último se conoce como alodinia [17] .

Sustancias como TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NGF y prostaglandinas E2 (PGE2) producen hiperalgesia y al neutralizarlas se reduce el dolor en modelos de inflamación. En cuanto al ON, éste es un mediador de analgesia a nivel del SNC principalmente y en menor cantidad a nivel periférico. El óxido nítrico se induce en tejidos inflamados, probablemente a través de las sintasas de ON inducible y neuronal (Inos Y nNOS).

Los donadores de ON contribuyen al dolor en el proceso inflamatorio y los inhibidores de estos donadores como lo es la PGE2 pueden llegar a reducir la hiperalgesia.

Muchos de los mediadores de la inflamación actúan directamente en las terminales de los nociceptores que inervan la zona afectada. Estas neuronas expresan receptores para TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NGF, IL-6, LIF, histamina, bradicinina y prostanoides.

La bradicinina actúa sobre receptores B2 en los nociceptores y a través de una proteína de diacilglicerol, fosforila una cinasa y esto produce que se abran canales de protones. Los canales TRPV1, también están sensibilizados, esto podría explicar el calor inducido por bradicinina. En caso de las PGs secretadas por la ciclooxigenasa 1 y 2 (COX<sub>1</sub> y COX<sub>2</sub>, respectivamente) actúan en una serie de receptores prostanoides en nociceptores. Activan la adenilato ciclasa en estas neuronas, elevando la concentración de AMP cíclico (AMPc), que sensibiliza las terminales nerviosas, aumentando las concentraciones de sodio [18] .

#### **1.1.10 Terapéutica del dolor**

Para el tratamiento del dolor se encuentran indicados una amplia gama de medicamentos. En ese sentido, la OMS designa una escala de dolor que es de ayuda en la prescripción de analgésicos y es sugerida como una estrategia para manejar el dolor crónico. Cabe mencionar que medicamentos desarrollados para el tratamiento de enfermedades no relacionadas con el dolor como antidepresivos, anticonvulsivantes, neurolépticos y corticoesteroides son empleados en ocasiones, y con buenos resultados, para síndromes de dolor crónico como en el caso de metástasis de hueso, dolor neuropático y dolor visceral donde se utilizan como analgésicos secundarios en cuadros dolorosos donde fracasan los analgésicos tradicionales o primarios [19]

Es importante recalcar que no son tratamientos de primera línea y que su uso debe estar indicado y supervisado por un experto de la salud.

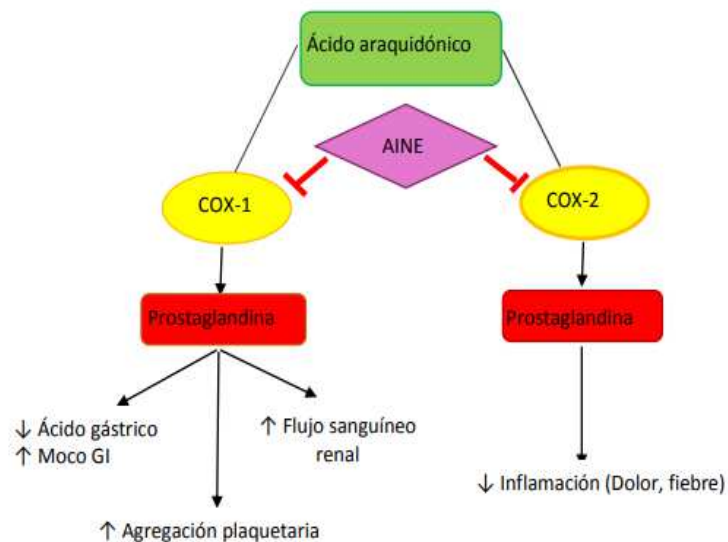
### 1.1.11 AINE

Los AINE tienen tres principales funciones; efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético. Ejemplo de ellos son el Paracetamol, el ácido acetilsalicílico, la indometacina, la nimesulida e ibuprofeno, siendo estos los AINE más utilizados en el mundo, seguido por el naproxeno, piroxicam y ketoprofeno [6].

### 1.1.12 Mecanismo de acción

La acción principal de estos fármacos es la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) de ácidos grasos y, por tanto, la inhibición de la síntesis de PGs y tromboxanos. Las PGs Promueven la inflamación y la agregación plaquetaria, son liberadas por células nucleadas y se encuentran en casi todos los tejidos.

Los AINEs actúan como inhibidores reversibles de la COX, uniéndose a una molécula de arginina, que está presente en ambas isoformas de la enzima COX e inhibiendo la función enzimática debido al impedimento estérico. Principalmente se conocen 3 isoenzimas, COX<sub>1</sub>, COX<sub>2</sub>, COX<sub>3</sub>. La COX<sub>1</sub> se encuentra en casi todos los tejidos. Participa en la homeostasis tisular, se ocupa de la síntesis de PGs implicada en la citoprotección gástrica, agregación plaquetaria, autorregulación dinámica renal y el comienzo del parto. La COX<sub>2</sub> es responsable de la producción de mediadores prostanoideos implicados en el proceso de la inflamación. En el caso específico del diclofenaco se ha encontrado que es un potente inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, en comparación con otros AINEs como el naproxeno e ibuprofeno [20].



### 1.1.13 Efectos adversos

El uso de los medicamentos analgésicos (AINEs) se ve limitado por la presencia de los efectos adversos. El daño en la mucosa gástrica como úlcera gástrica es uno de los más comunes y principalmente efectos adversos. Es importante hacer un uso adecuado de estos fármacos y valorar el riesgo-beneficio, así como realizar evaluaciones periódicas para distinguir entre una buena adherencia al tratamiento y el abuso por parte del paciente. La dependencia física es una respuesta fisiológica a la abstinencia, en pacientes que han recibido el tratamiento continuamente y la tolerancia es un fenómeno farmacológico en el que se requiere incrementar la dosis del fármaco para lograr el efecto analgésico. Lo anterior no supone progreso en la enfermedad. Debido a lo anterior existe la necesidad continua de buscar nuevas alternativas terapéuticas como la medicina tradicional.

## **1.2 *Acacia Farnesiana***

### **1.2.1 Origen**

Esta planta es probablemente originaria de América tropical. En la actualidad se encuentra ampliamente distribuida en varios continentes y naturalizada en algunas regiones del mundo incluyendo la República Mexicana.

### **1.2.2 Distribución geográfica**

Se encuentra ampliamente distribuido en México en las regiones áridas y semiáridas, así como en las áreas de contacto entre las zonas áridas, encinares y pinares. Su distribución abarca desde Sonora hasta Chiapas por el Pacífico, y desde Tamaulipas y Nuevo León hasta la Península de Yucatán por el Golfo de México. Se encuentra también en el desierto sonorense y chihuahuense, se presenta con mayor abundancia en los estados de Nuevo León, Coahuila, Tamaulipas, San Luis Potosí, Zacatecas, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, Aguascalientes, Estado de México, Hidalgo, Puebla, Oaxaca, Guerrero y Chiapas.

### **1.2.3 Sinonimia**

*Acacia acicularis* Willd.; *Mimosa farnesiana* L.; *Vachellia farnesiana* (L.) Wight et Arn

### **1.2.4 Nombres comunes en México**

Huizache, Guizache (Rep. Mex.); Güizache yóndiro (Mich., Gro.); Aromo, Aroma (Yuc., Tab., Chis.); Bihi (l. zapoteca, Oax.); Coo-ca, Cucá (L. guarigia, Son.); Espino, Espino blanco (Oax.); Fiñisache (Gto.); Flor de niño, Quisache (Chis.); Gabia, Gavia (Dgo.); lai-do-no (l. cuicatleca, Oax.); Kánkilis-ché, Kántilis, X-kántilis, Xkantiris, Zubín, Zubínché (Yuc.); Minza (l. otomí, Hgo.); Tsurúmbini, Tsurímbini (l. tarasca, Mich.); Vinorama (Son., B.C., Sin.); Xcantiris (Mich.); Thujánium (l. huasteca, S.L.P.);Cucca (l. mayo, Son.).

## **2. Planteamiento del problema**

El dolor es una de las principales causas por las cuales los pacientes suelen visitar al médico [21, 22] y una fuente de angustia para el individuo que lo sufre. En los humanos usualmente es más importante esta aflicción que el dolor sensorial por sí mismo [23]. Un mal manejo del dolor puede tener efectos adversos muy distintos, desde complicaciones medicas severas, hasta ansiedad o depresión disminuyendo la calidad de vida [24]. Así mismo es la principal causa de ausentismo, subempleo y desempleo [22]. Por otro lado, el uso de los analgésicos tradicionales puede provocar efectos adversos que son potencialmente serios, desde enfermedades cardiovasculares o gastrointestinales, o el desarrollo de tolerancia y dependencia en el caso del uso de opiáceos [25, 26].

Hoy en día en nuestro país, la medicina tradicional es una opción muy utilizada por la población para el tratamiento de diferentes padecimientos, debido a que los servicios de salud en México, principalmente en las comunidades más alejadas de la mancha urbana, a causa de que son insuficientes, o porque las personas que viven en las comunidades, no cuentan con los recursos económicos para utilizar un servicio médico particular [27]. Este último problema lo presenta las comunidades con bajos recursos de nuestro país que recurren al uso de plantas medicinales para tratar diversas enfermedades; cabe mencionar que para el 45% de la población nacional, la medicina tradicional es el único recurso con el que cuentan, además de los rituales de curación que les hacen los curanderos. Para otro 45% de la población complementan la herbolaria con alopatía o viceversa, complementan la alopatía con herbolaria.



### 3. Justificación

El uso de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades se remonta a civilizaciones antiguas de todo el mundo. La medicina tradicional China, por ejemplo, es famosa por el uso de hierbas como parte importante de la medicina alternativa y complementaria. Dicha práctica data de hace miles de años y se ha extendido por Japón y otros países asiáticos. La medicina ayurvédica es un sistema de medicina tradicional de la India, esta incluye la descripción de más de 500 signos y síntomas de diferentes enfermedades de las que se reporta el uso de 700 especies de plantas y 6000 formulaciones que se pueden elaborar para el tratamiento de estas [28] .

En México las culturas Maya y Azteca emplearon las plantas como su base medicinal. Con la llegada de los españoles se introdujeron nuevos conocimientos y productos del viejo mundo, de este modo el arsenal de medicina natural de América incremento.

A lo largo de los años la utilización de productos naturales como alternativa en el tratamiento de algún padecimiento ha incrementado, esto debido a su uso empírico en diversas comunidades del país; Debido a la efectividad de muchos de estos, se ha comenzado a investigar y a profundizar acerca del alcance que tienen dichos extractos. El uso de plantas medicinales cada vez se torna en una terapia de mayor aceptación y demanda por parte de los pacientes que la padecen, pero aún es limitado el conocimiento que permita su empleo clínico generalizado, [29].

En la actualidad las personas optan por este tipo de alternativas de tratamiento porque dice que son baratas y se cree que no producen riesgo o no hay posibilidad de reacciones alérgicas u otros efectos adversos, ya que se asocian con lo natural, lo cual nos siempre se cumple, [30] .

Se estima de alrededor de 70,000 plantas son utilizadas como alternativa terapéutica alrededor del mundo. De acuerdo con la OMS, cerca del 80% de la población mundial elabora remedios que tienen como base estos recursos naturales y esto podría explicarse dada la suposición de alta efectividad, bajo costo y disminución de efectos adversos , [30].

### 4. Hipótesis

El extracto metanólico de *Acacia Farnesiana* al ser evaluado en la prueba de formalina en rata presentará efectos antinociceptivos dependientes de la dosis.

### 5. Objetivo

#### 5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antinociceptivo y antiinflamatorio del extracto metanólico de *Acacia farnesiana* en un modelo de dolor inflamatorio.

#### 5.2 Objetivo específico

- Implementación del modelo de formalina en rata.
- Analizar de manera cuantitativa los efectos antinociceptivos en el modelo de formalina en ratas mediante la elaboración de una curva dosis/respuesta de *Acacia farnesiana*.

## **6. Material y métodos**

### **6.1 Origen y tratamiento del extracto**

#### **6.1.1 Colecta y manejo del material vegetal**

Partes aéreas de Nombre de planta fueron colectadas en la el municipio de Mineral de la Reforma, Estado de Hidalgo. Una vez colectada, la planta fue trasladada al área de Farmacia en el Instituto de Ciencias de la Salud (ICSa) de la UAEH, para su limpieza y deshidratada a 20-25 °C en un ambiente protegido de la luz solar, hasta completa sequedad. Para la limpieza, se retiraron aquellas especies colectadas accidentalmente y que no corresponden al material botánico de estudio. A su vez, se separaron flores y semillas. Al conseguir la completa deshidratación, las partes aéreas de *Acacia Farnesiana* fueron pasadas a través de un molino eléctrico para reducir el tamaño de la partícula y homogenizar la muestra, para su posterior maceración con metanol.

#### **6.1.2 Obtención de extracto crudo**

Las partes aéreas, secas y molidas de Nombre de Planta se maceraron en metanol durante 2 semanas, en una relación de 4 L de disolvente/500 g de muestra. Posteriormente, el macerado se filtró y concentró en un rotavapor a presión reducida a una temperatura de 40°C, para la remoción del disolvente y obtención del extracto crudo.

#### **6.1.3 Tratamiento del extracto**

El extracto crudo fue recuperado y disuelto mediante sonicación con tween80 al 1% para obtener las diferentes dosis ocupadas en el experimento, tomando en cuenta la administración de 5 mL/kg vía p.o. con las dosis de 31.6, 56.2, 100, 77.8 y 100 mg/Kg. Así mismo se administró diclofenaco como fármaco estándar en 4 dosis diferentes: 17.8, 31.6, 56.2 y 100 mg/kg, empleando como vehículo solución salina.

## **6.2 Animales**

Se utilizaron Ratas Wistar de entre 180 y 200 g obtenidas de la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana plantel Xochimilco. Las cuales fueron criadas bajo condiciones controladas: temperatura preestablecida de 19-22°C; una humedad relativa del 45-65%; un fotoperiodo de luz 12 h de luz y 12 h de oscuridad y alimentados con 5012 Rat Chow Purina®.

Todos los experimentos se llevaron a cabo siguiendo las recomendaciones del Comité de investigación y Ética de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor; los Lineamientos y Estándares Éticos para la Investigación del Dolor Experimental en Animales y acordes a un protocolo experimental que cumple con los requisitos establecidos en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

## **6.3 Evaluación del efecto antinociceptivo**

Para la evaluación del efecto antinociceptivo se utilizó el modelo experimental de la prueba de formalina al 1% reportado por Gong et al en el 2014, con algunas variaciones, ya que es un modelo útil para la detección de nuevos compuestos, debido a que abarca los mecanismos inflamatorios, neurogénicos y centrales de la nocicepción. Los animales se colocaron en cilindros de observación transparentes de acrílico de 30×30×60 cm, por un periodo de 30 minutos, con la finalidad de permitirles ambientarse a su entorno. Después de este periodo, se administró por la vía subcutánea, 100 µL de formalina al 1% en la superficie plantar de la pata trasera derecha con una aguja de calibre 26. La formalina fué preparada partir de una solución de formaldehído al 37% disponible comercialmente y diluida en solución salina isotónica. Posterior a la administración de

la formalina, los animales se colocaron nuevamente en el cilindro y se cuantificó la conducta dolorosa a intervalos de 1 min cada 5 min, durante 60 min. Las conductas relacionadas con el estímulo nociceptivo se cuantificaron mediante la determinación de la incidencia de sacudidas espontáneas de la pata inyectada o el tiempo acumulado de lamidas de la pata inyectada (frecuencia de sacudidas/lamidas). Se determinaron las conductas nociceptivas cada 5 minutos, contabilizando las frecuencias de dicho comportamiento. Los datos se registraron para la fase aguda temprana (fase 1) durante un periodo de 0 a 10 minutos después de la inyección y la fase tónica tardía (fase 2) durante un periodo que comprende de los 10 a los 60 minutos posteriores a la inyección de formalina. Todos los experimentos se llevaron a cabo a una temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Al final del experimento los animales fueron sacrificados en cámara de  $\text{CO}_2$ .

#### 6.4 Diseño experimental

Para el análisis de la prueba se utilizó una videocámara para registrar el comportamiento del animal. Se formaron 11 grupos con una n de 12 ratas cada uno. Se evaluaron las dosis de 31.6, 56.2, 100, 177.8 y 316.3 mg/Kg de *Acacia Farnesiana* dosis escaladas de diclofenaco como estándar (17.8, 31.6, 56.2 y 100 mg/kg y un grupo vehículo. Todos los grupos recibieron su tratamiento respectivo vía oral a un volumen de 5 mL/kg.

El tiempo de lamida y el número de sacudidas obtenidos fueron tratados por separado calculando el ABC de la prueba. La actividad nociceptiva se evaluó con el cálculo y gráfico del porcentaje de inhibición (Gráfico 5. Porcentaje de inhibición) con la siguiente fórmula ocupando las medias de los distintos grupos:

$$\% \text{Antinocicepción} = \left( \frac{ABC_{vehículo} - ABC_{tratamiento}}{ABC_{vehículo}} \right) \times 100$$

Para analizar el efecto antinociceptivo del extracto en sus distintas dosis, se graficaron cursos temporales con la finalidad de analizar la reducción de la conducta nociceptiva (número de sacudidas y el tiempo de lamidas) con respecto al tiempo transcurrido en la prueba de formalina; se compararon con el control y con el fármaco de referencia (Gráfico 1. Curso Temporal de Frecuencia de lamidas y Gráfico 3. Curso Temporal de Frecuencia de sacudidas), así mismo se realizó un gráfico del Área Bajo la curva de sacudidas y lamidas (Gráfico 2. Área Bajo la curva de Lamidas y Gráfico 4. Área Bajo la curva de sacudidas).

#### 6.5 Evaluación estadística

Los resultados de la evaluación de la actividad antinociceptiva fueron expresados como la media aritmética de los valores, se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar diferencias significativas entre los grupos, así como la prueba complementaria de Tukey para comparaciones múltiples. Los resultados con una  $p < 0.05$  se consideraron significativos.

### 7. Resultados

En el modelo de formalina al 1% en rata, la inyección subcutánea de formalina produce una respuesta dolorosa caracterizada por la sacudida de la pata inyectada, en este modelo la disminución en el número de sacudidas se interpreta como efecto analgésico o antinociceptivo. La fase 1 de la prueba comienza justo después de la administración de formalina hasta el minuto 10, del minuto 10 al minuto 60 es la fase 2. En el curso temporal de los tiempos de lamida registrados en el Gráfico 1 los tratamientos con *Acacia Farnesiana* muestran un efecto dependiente de la dosis, sin embargo las curvas de *Acacia Farnesiana* 100 mg/kg y 177 mg/Kg muestra una

disminución mayor de la conducta nociceptiva en comparación a todos los demás tratamientos en la primera fase del experimento, a pesar de que al inicio de la segunda fase la dosis de *Acacia Farnesiana* de 100 mg/Kg tienen una respuesta nociceptiva menor a la dosis de 177 mg/kg la frecuencia del tiempo de lamida comienza a disminuir hasta llegar a 0 en el min 55.

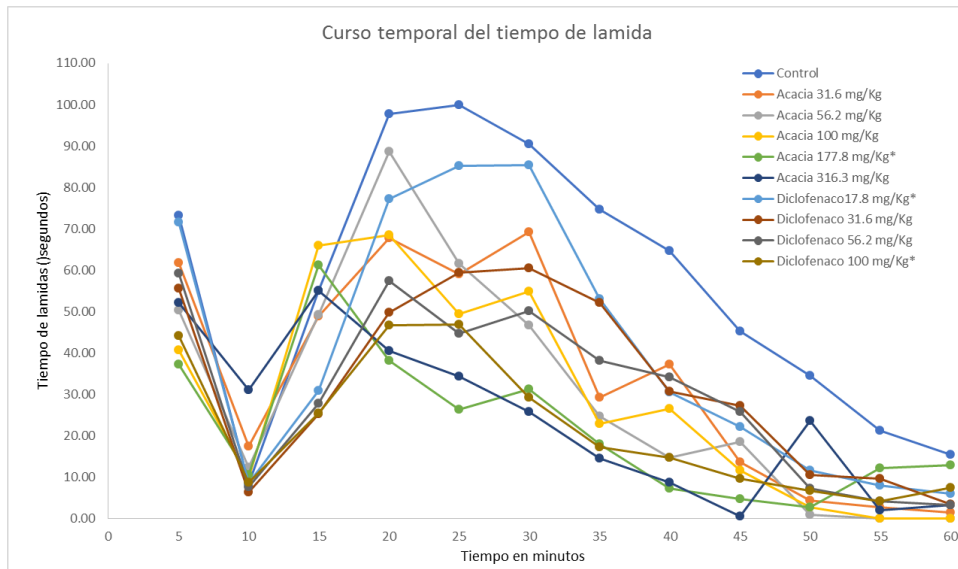


GRÁFICO 1. CURSO TEMPORAL DEL TIEMPO DE LAMIDAS CON LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS DE DICLOFENACO Y ACACIA FARNESIANA. LOS DATOS CON \* PRESENTAN DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE SI DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY.

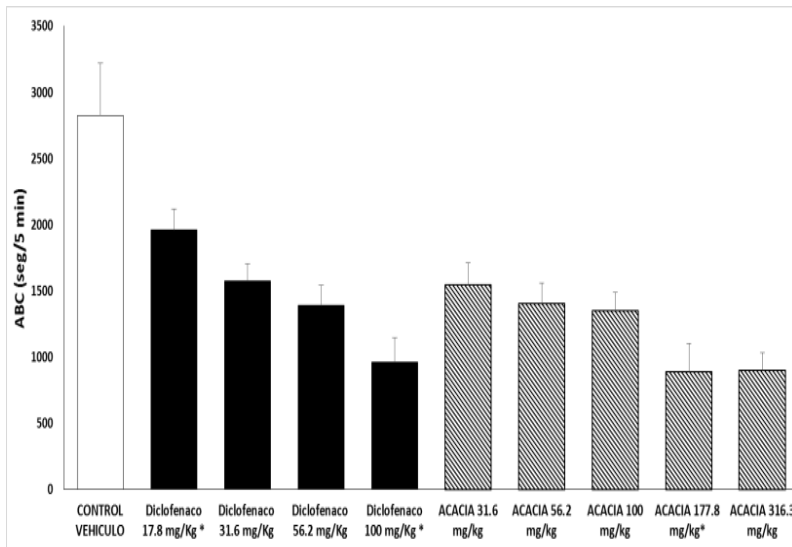


GRÁFICO 2. ÁREA BAJO LA CURVA DE LAMIDAS

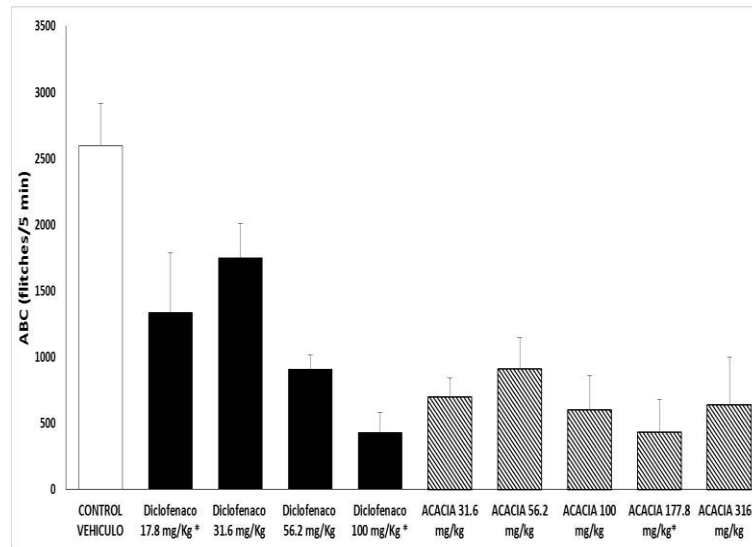


GRÁFICO 3. ÁREA BAJO LA CURVA DE SACUDIDAS

Gráfico 2 y 3. ÁREA BAJO LA CURVA TOTAL DE LAS CONDUCTAS NOCICEPTIVAS DE LAMIDAS (GRAFICO 2) Y SACUDIDAS (GRAFICO 3) EN LA PRUEBA DE FORMALINA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS: EXTRACTO DE ACACIA FARNESIANA Y DICLOFENACO. LOS VALORES CON \* FUERON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES VS VEHÍCULO  $p < 0.05$ .

En el Grafico 2 y 3 podemos observar que la dosis de 177 mg/Kg presenta un mayor porcentaje de inhibición no sólo en el número de lamidas sino también en las sacudidas generadas por la administración de formalina al 1 %, esto también se puede observar numéricamente en la Tabla 1. En el grafico 4 podemos apreciar las curvas dosis repuesta del porcentaje de inhibición del número de lamidas del extracto metanólico de Acacia Farnesiana y el fármaco de referencia (diclofenaco), el cual podemos apreciar que dicho efecto es dosis dependiente

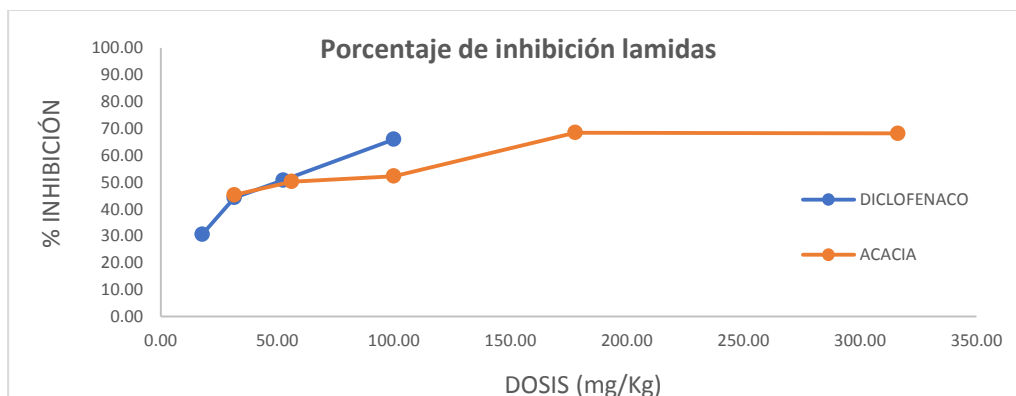


GRÁFICO 4. CURVA DOSIS-RESPUESTA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL NÚMERO DE LAMIDADAS DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS: EXTRACTO DE ACACIA FARNESIANA Y DICLOFENACO.

Datos de curva dosis respuesta		
Diclofenaco		
DOSIS	%INHIBICION	EE
17.80	30.56	5.63
31.60	44.28	4.62
52.60	50.79	5.34
100.00	65.96	6.52
Acacia Farnesiana		
31.60	45.28	5.80
56.20	50.27	5.51
100.00	52.25	5.01
177.80	68.47	6.46
316.30	68.17	4.68

TABLA 1. DATOS DE CURVA DOSIS-RESPUESTA

Al graficar la frecuencia de sacudidas en función del tiempo se obtiene el Grafico 4 donde se puede observar la conducta bifásica (la primera fase de 0-10 min y la segunda fase de 10-60 min después de la inyección de formalina) característica del modelo.

En el grafico 5, también se muestra los resultados obtenidos del grupo vehículo (Sol. Salina), diclofenaco (17.8, 31.6, 56.2 y 100 mg/kg) así como del extracto (31.6, 56.2, 100, 177.8 y 316.3 mg/Kg). La administración local de diclofenaco disminuyó el número de sacudías en ambas fases del modelo en comparación con el grupo vehículo. Así mismo se observó el mismo comportamiento antinociceptivo después de la administración de extracto de *Acacia Farnesiana* en las distintas concentraciones.

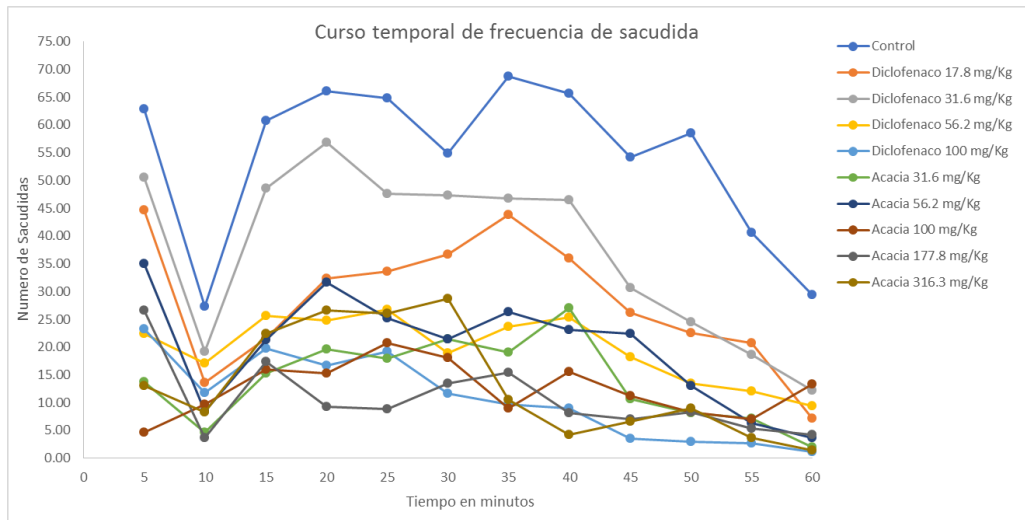


GRÁFICO 5. CURSO TEMPORAL DE FRECUENCIA DE SACUDIDAS CON LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS DE DICLOFENACO Y ACASIA FARNESIANA.

En el curso temporal podemos que el número de sacudidas muestra una notable disminución en ambas fases del experimento con las concentraciones de 177.8 mg/kg y 100 mg/Kg, sin embargo en el Grafico 6 se pueden apreciar las curvas dosis-respuesta del porcentaje de inhibición de sacudidas del extracto metanólico de *Acacia Farnesiana* y el fármaco de referencia (diclofenaco), en el cual podemos apreciar que el efecto antinociceptivo es dosis dependiente y la dosis de *Acacia Farnesiana* de 177.8mg/Kg es la que presenta un mayor porcentaje de Inhibición (Tabla 2).

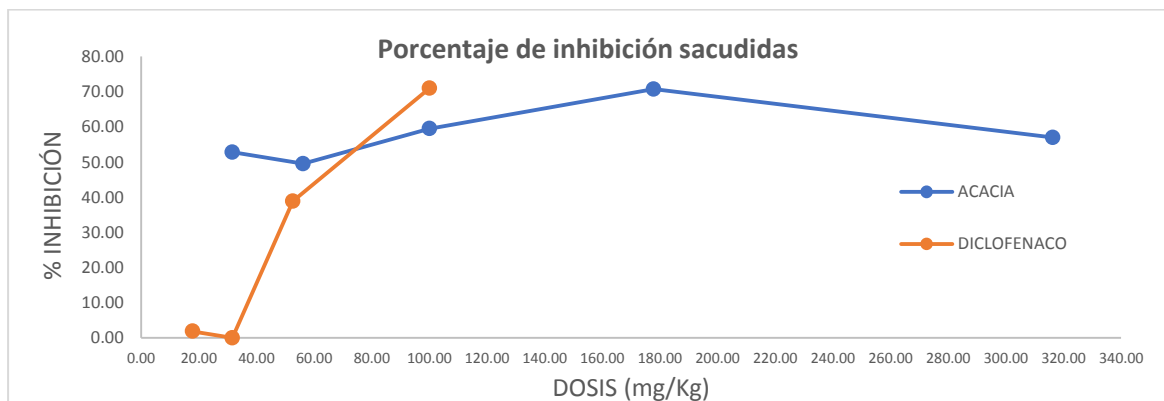


GRÁFICO 6. CURVAS DOSIS RESPUESTA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL NÚMERO DE SACUDIDAS DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS: EXTRACTO DE ACASIA FARNESIANA Y DICLOFENACO

DATOS CURVA Dosis-Respuesta		
Diclofenaco		
DOSIS	%INHIBICION	EE
17.80	1.87	32.32
31.60	0.00	15.91
52.60	38.87	7.33
100.00	70.96	10.16
<i>Acacia Farnesiana</i>		
31.60	52.81	9.41
56.20	49.52	10.64
100.00	59.49	17.13
177.80	70.74	14.31
316.30	56.98	24.39

TABLA 2. DATOS DE CURVA DOSIS-RESPUESTA

## 8. Discusión

La prueba de la formalina es un modelo utilizado para la cuantificación del comportamiento antinociceptivo de nuevos fármacos de origen vegetal y sintético desde su descripción por Dubuisson y Dennis en 1977. En este modelo, los comportamientos de interés son el tiempo de lamida de la extremidad trasera donde se administró la sustancia química (formalina 1%) y la frecuencia de sacudidas de dicha extremidad. La gran ventaja de este modelo es que podemos evaluar dos tipos de dolor mediante dos fases. La primera fase corresponde a la activación directa de receptores aferentes nociceptivos (0-10 min) y la segunda a la activación de los aferentes como resultado del proceso inflamatorio (10-60 min), esta diferencia se hace notoria en las figuras 1 y 2 en el rango de los 10-15 minutos donde el proceso de nocicepción inflamatorio comienza por la activación de mediadores químicos en la medula espinal como prostaglandinas, la sustancia P o la bradicinina.

Además es notoria la susceptibilidad de la medición del tiempo de lamida comparada con las sacudidas, esto se puede apreciar en los resultados previamente mostrados ya que la frecuencia del número de sacudidas muestra comportamientos distintos bien definidos y dependientes de la dosis, mientras que la gráfica que representa el tiempo de lamida presenta curvas apenas distintas entre las concentraciones de diclofenaco. A pesar de lo anterior, los extractos de *Acacia Farnesiana* presentan un efecto antinociceptivo bastante similar al efecto del estándar y el vehículo. En los graficos mostrados anteriormente se puede observar que el porcentaje de inhibición desencadenado por la dosis de 177.8 mg/kg de *Acacia Farnesiana* es superior a los otros tratamientos, aunque es importante recordar que el comportamiento de la sacudida es más preciso para cuantificar la nocicepción. Dicho lo anterior y para fines de este trabajo es de mayor interés la fase dos del modelo, enfocándonos en las sacudidas. En el grafico 6 todos los tratamientos muestran un comportamiento dependiente de la dosis, pero las dosis de 177.8mg/kg destaca por ser la dosis que presenta un mayor porcentaje de inhibición.

Estos resultados se pueden deber a la activación del sistema GABAérgico por uno o varios principios activos provenientes del extracto. Se reporta que las terminales GABA en el núcleo de tálamo activan el sistema descendiente inhibitorio corteza orbitaria ventrolateral-tronco encefálico gris periodontal (PAG) y deprime los receptores nociceptivos a nivel de la medula espinal. Aun así, hacen falta estudios para conocer los principios activos y componentes de *Acacia Farnesiana* para tener un mejor panorama respecto a la actividad que este extracto desencadena ya que el dolor inflamatorio es consecuencia de la activación de la sensibilización periférica y central que depende

de la plasticidad neuronal del individuo y de la amplia gama de mediadores inflamatorios como citocinas, factores de crecimiento, histamina, bradicinina, histamina, 5-HT, ATP y óxido nítrico.

## 9. Conclusión

Nuestros resultados proveen la primera evidencia del efecto antinociceptivo del extracto metanólico de *Acacia Farnesiana* no solo en dolor nociceptivo sino también en dolor inflamatorio, por lo que se sugiere seguir con la investigación ya que esto puede originar una nueva alternativa terapéutica para el tratamiento del dolor nociceptivo e inflamatorio.

## 10. Bibliografía

1. Venturella, I. and M. Balconi, *Pain and Consciousness in Humans. Or Why Pain Subserves the Identity and Self-representation*. Rivista internazionale di Filosofia e Psicologia, 2016. **7**(2): p. 166-179.
2. Loeser, J.D. and R. Melzack, *Pain: an overview*. The lancet, 1999. **353**(9164): p. 1607-1609.
3. Dowlati, E. *Spinal cord anatomy, pain, and spinal cord stimulation mechanisms*. in *Seminars in spine surgery*. 2017. Elsevier.
4. Møller, A.R., *Neural plasticity and disorders of the nervous system*. 2006: Cambridge University Press.
5. Merskey, H., *Part III pain terms, a current list with definitions and notes on usage*. Classification of chronic pain-descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms, 1994: p. 207-214.
6. Woolf, C.J. and M.W. Salter, *Neuronal plasticity: increasing the gain in pain*. science, 2000. **288**(5472): p. 1765-1768.
7. García, B.P., *Inflamación*. Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat.(Esp) Vol, 2008. **102**: p. 91-159.
8. Romera, E., et al., *Neurophysiology of pain*. Rev Soc Esp Dolor, 2000. **7**(II): p. 11-17.
9. Berry, P.H., et al., *Pain: current understanding of assessment, management, and treatments*. National Pharmaceutical Council and the Joint Commission for the Accreditation of Healthcare Organizations, VA, USA, 2001: p. b44.
10. Chapman, C.R. and Y. Nakamura, *A passion of the soul: an introduction to pain for consciousness researchers*. Consciousness and Cognition, 1999. **8**(4): p. 391-422.
11. D'Mello, R. and A.H. Dickenson, *Spinal cord mechanisms of pain*. British journal of anaesthesia, 2008. **101**(1): p. 8-16.
12. Guilbaud, G., J. Bernard, and J. Besson, *Brain areas involved in nociception and pain*. Textbook of pain, 1994. **3**: p. 113-128.
13. Sabatowski, R., et al., *Pain treatment: a historical overview*. Current pharmaceutical design, 2004. **10**(7): p. 701-716.
14. García-Andreu, J., *Manejo básico del dolor agudo y crónico*. Anestesia en México, 2017. **29**: p. 77-85.
15. Yarnell, E., *Phytotherapy for the treatment of pain*. Modern Phytotherapist, 2002. **7**(1): p. 1-12.
16. Cañigual, S., E. Dellacassa, and A.L. Bandoni, *Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo?* Acta farmacéutica bonaerense, 2003. **22**(3): p. 265-279.
17. Ferreira, T., et al., *Phytotherapy: an introduction to its history, use and application*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2014. **16**(2): p. 290-298.
18. Vibrans, H. and P. Tenorio-Lezama, *Malezas de México*. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/paginas/lista-plantas.htm>, 2009.
19. Meira, M., et al., *Review of the genus Ipomoea: traditional uses, chemistry and biological activities*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2012. **22**(3): p. 682-713.



20. Herrera-Ruiz, M., et al., *Central nervous system depressant activity of an ethyl acetate extract from Ipomoea stans roots*. Journal of ethnopharmacology, 2007. **112**(2): p. 243-247.
21. Mäntyselkä, P., et al., *Pain as a reason to visit the doctor: a study in Finnish primary health care*. Pain, 2001. **89**(2-3): p. 175-180.
22. Pain Society, A., *Pain Assessment and Treatment in the Managed Care Environment*. The Case Manager, 2000. **11**(5): p. 50-53.
23. Świeboda, P., et al., *Assessment of pain: types, mechanism and treatment*. Pain, 2013. **2**(7).
24. Becker, N., et al., *Pain epidemiology and health related quality of life in chronic non-malignant pain patients referred to a Danish multidisciplinary pain center*. Pain, 1997. **73**(3): p. 393-400.
25. Samuelsen, P.-J., *Use of analgesics in the general population: Trends, persistence, high-risk use and associations with pain sensitivity*. 2016.
26. Volkow, N.D. and A.T. McLellan, *Opioid abuse in chronic pain—misconceptions and mitigation strategies*. New England Journal of Medicine, 2016. **374**(13): p. 1253-1263.
27. Ocegueda, S., E. Moreno, and P. Koleff, *Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica*. Biodiversitas, 2005. **62**: p. 12-15.
28. Bataille, E. and R. Chausset, *Pain. Neurophysiological basis*. Soins; la revue de reference infirmiere, 1997(614): p. 6-8.
29. Ortega, A., A. Roca, and J. Micó, *Modelos animales de dolor. Una visión crítica*. Rev. Soc. Esp. Dolor, 2002. **9**: p. 447-453.
30. Bourke, E. and P.N. Moynagh, *Antiinflammatory effects of glucocorticoids in brain cells, independent of NF- $\kappa$ B*. The Journal of Immunology, 1999. **163**(4): p. 2113-2119.