



**UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
METROPOLITANA**
Unidad Xochimilco



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO

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

INFORME DE ACTIVIDADES DEL SERVICIO SOCIAL

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIRREUMÁTICA DE LAS PLANTAS DEL GÉNERO *Stevia*

**Correspondiente al Proyecto genérico:
Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos
biológicos**

ALUMNO: Néstor Daniel Cristóbal Ocampo

MATRICULA: 2152031753

ASESORES:

**María Salud Pérez Gutiérrez
Profesor Titular C, tiempo completo. No económico: 2212**

Ernesto Sánchez Mendoza
Técnico académico Titular E, tiempo completo. No económico: 35036

ÍNDICE GENERAL

- 1.-RESUMEN
- 2.-MARCO TEÓRICO
 - 2.1.-INFLAMACIÓN
 - 2.2.-ARTRITIS REUMATOIDE
 - 2.2.1.-PREVALENCIA DE LA ARTRITIS EN MÉXICO Y EL MUNDO
 - 2.2.2.-FISIOPATOLOGÍA y BASES MOLECULARES
 - 2.2.3 LA VIA DE SEÑALIZACION DE LA PROTEINA QUINASA (MAPK)
 - 2.2.4 MACROFAGOS
 - 2.2.5 LINFOCITOS B
 - 2.2.6 LINFOCITOS T
 - 2.2.7 CITOQUINAS
 - 2.2.8 OSTEOCLASTOS
 - 2.2.9 OTRAS CELULAS INFLAMATORIAS
 - 2.3.-LOS TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS
 - 2.4.-PRODUCTOS NATURALES Y SU IMPORTANCIA
 - 2.5.-EL GÉNERO STEVIA
- 3.-HIPÓTESIS
- 4.-OBJETIVO GENERAL
 - 4.1.-OBJETIVOS PARTICULARES
- 5.-MATERIAL Y MÉTODO
- 6.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN
 - 6.1 COMPUESTOS REPORTADOS DEL GENERO STEVIA
 - 6.2 S. SERRATA
 - 6.3 S. SUBPUBENCES
 - 6.4 S. REBAUDIANA
- 7.-CONCLUSIONES
- 8.-ANEXO
 - 8.1.-GLOSARIO
 - 8.2.-ESTRUCTURAS QUÍMICAS
- 9.-BIBLIOGRAFÍA

1.-RESUMEN

La inflamación es una respuesta natural que protege a los organismos vivos contra patógenos y lesiones. A través del sistema inmunológico el cuerpo recluta células inmunitarias para atacar el sitio de inflamación mediante la producción de mediadores proinflamatorios, sin embargo, la producción excesiva de mediadores proinflamatorios puede inducir diversas enfermedades humanas crónicas.³ La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune, sistémica y crónica, que se produce como resultado de una interacción compleja entre factores ambientales y genéticos, caracterizada por inflamación, hinchazón, dolor en los espacios articulares que a medida que el cartílago erosiona produce deformidades que deterioran el movimiento articular.^{1,18}

En México, la artritis reumatoide constituye un problema de salud pública debido a su prevalencia a nivel nacional del 1.6% en la población, misma que tiene como consecuencias un impacto socioeconómico y el incremento en el uso de los servicios de salud.² El tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos (AINES), fármacos modificadores del curso de la enfermedad (FAMES), glucocorticoides y agentes biológicos, tiene múltiples efectos indeseables como irritación de la mucosa, producción de úlcera gástrica, inhibición de la agregación plaquetaria e interacciones farmacocinéticas.^{5,28,29} La utilización de fitofármacos es una alternativa terapéutica para el tratamiento de AR.³³

El uso de los productos naturales es cada vez más común, en los últimos años en la industria alimentaria y farmacéutica se han estado usando las especies de *Stevia* debido a que algunos de sus metabolitos secundarios pueden emplearse como edulcorantes que no aportan calorías.⁶³ Las especies de *Stevia* son una rica fuente de moléculas biológicamente activas que incluyen lactonas sesquiterpénicas, triterpenos y flavonoides con efectos antimicrobianos, antifúngicos, antioxidantes, antiinflamatorios, proapoptóticos y anticancerígenos.⁶⁴ En particular *Stevia rebaudiana* presenta en su composición un alto porcentaje de glucósidos de esteviol y compuestos fenólicos, algunos de sus compuestos son ácido clorogénico, ácido

cafeico, ácido ferúlico, rutina y astroinulina que han sido identificados en extractos acuosos de hojas de *Stevia Rebaudiana*, y que inhiben de manera significativa la inflamación.⁴⁹ Debido a la importancia que tienen los metabolitos con actividad biológica aislados de plantas, en la presente investigación se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre la actividad antiinflamatoria y antirreumática de las plantas y los metabolitos aislados del género *Stevia*.

2.-MARCO TEORICO

2.1.1 Inflamación

La inflamación es una respuesta natural que protege a los organismos hospedadores contra patógenos y lesiones externas.⁵ Tras la activación, el sistema inmunológico innato de defensa del cuerpo recluta células inmunitarias para atacar el sitio de inflamación mediante la producción de mediadores proinflamatorios. Estos mediadores, como las interleucinas (IL), reclutan células inmunitarias para ayudar en la lucha contra patógenos, cuerpos extraños o incluso células cancerosas.⁴

La inflamación es entonces un conjunto de mecanismos y mediadores químicos que actúan como defensa y reparación continua en el organismo, los sistemas inmunitarios innato y adaptativo en conjunto, dan lugar a lo que se denomina respuesta inflamatoria.³ En primer lugar la respuesta inmunitaria innata está regulada por mediadores generados por elementos vasculares y celulares que detectan posibles patógenos gracias a una red de receptores de reconocimiento de patrones (PRR) que se encuentran en prácticamente todos los organismos, y que reconocen los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), ejemplo de estos PRR son los receptores de tipo Toll (TLR) que son una superfamilia de receptores de antígenos, capaces de reconocer ARN/ADN de patógenos y componentes como material de la pared celular, endotoxinas, etc.⁵

Los TLR están situados estratégicamente en los macrófagos, mastocitos y células dendríticas. La interacción de los PAMP con los TLR activa a las células que responden produciendo polipéptidos proinflamatorios denominados citocinas, que estimulan la liberación de histamina y las prostaglandinas que en conjunto actúan sobre las células endoteliales para aumentar la permeabilidad vascular y activar una serie de cascadas proinflamatorias. Posteriormente, se activa la fase adaptativa de la respuesta inmunitaria inflamatoria, donde los ganglios linfáticos locales drenan los productos de los microorganismos invasores, producen anticuerpos y se genera la memoria inmunitaria, esta respuesta es más intensa que la respuesta innata, además de ser muy específica para el patógeno invasor.⁵ Cuando el proceso inflamatorio se sale de control, la producción excesiva de mediadores proinflamatorios puede inducir diversas enfermedades humanas agudas y crónicas.

2.2.-Artritis Reumatoide

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune, sistémica y crónica, que se produce como resultado de una interacción compleja entre factores ambientales y genéticos, caracterizada por inflamación, hinchazón, dolor en los espacios articulares que a medida que el cartílago erosiona produce deformidades que deterioran el movimiento articular y diversos síntomas como rigidez matinal, fatiga, dolor, incapacidad funcional e incluso depresión. La figura 1 ilustra la diferencia entre una articulación normal y una con AR donde el daño llega a erosionar el hueso ^{1,4}

2.2.1 Prevalencia de la artritis reumatoide en México y el Mundo

La prevalencia de AR se observa más en mujeres que en hombres siendo la proporción 3:1 y su tasa de mortalidad es dos veces mayor que la de la población normal. ² En un estudio realizado por el Global Burden of Disease en 2010, se determinó que la prevalencia de AR en el mundo en personas de 5 a 100 años de edad es de 0.24%, cabe mencionar que en el mismo estudio en 1990 la media era 0.25%.⁷ Estos datos demuestran un nulo avance en el tratamiento y prevención. En 2013, el Congreso del Colegio Mexicano de Reumatología, reportó una prevalencia del 1.6% dentro de la población, lo que colocó a México dentro de los países con alto porcentaje en artritis reumatoide, donde el rango va del 0.5 al 1.6 por cada 100 000 habitantes, que genera una considerable carga económica y social para la familia y para los sistemas de salud.^{8,9}

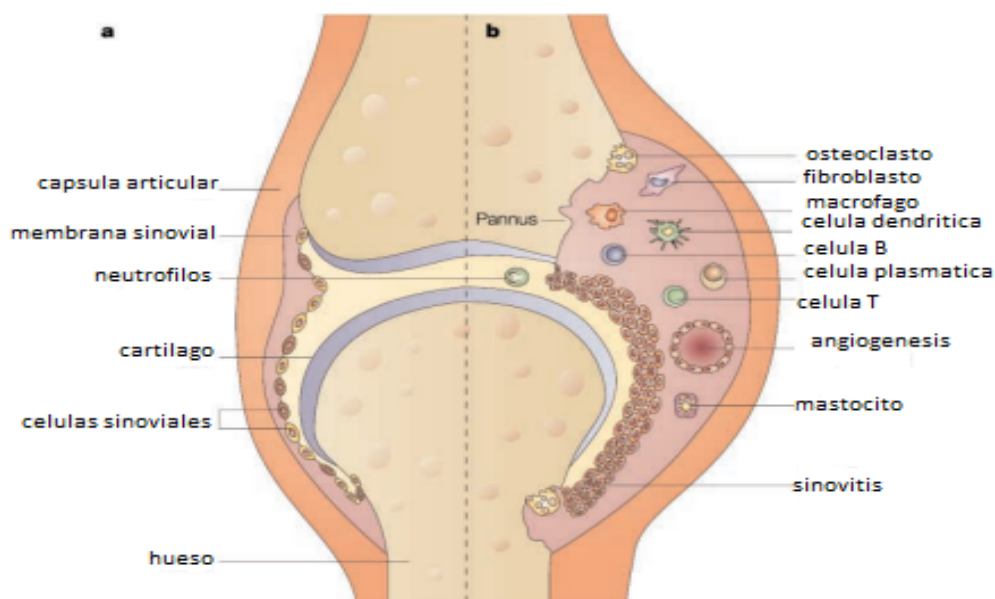


Figura 1 Representación de una articulación normal (a) y una con Artritis Reumatoide (b)
(McInnes, I. B., & Schett, G. 2011)

2.2.2 Fisiopatología y Bases moleculares

La fisiopatología de la AR involucra numerosos tipos celulares, como linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y osteoclastos, entre otras células inflamatorias, así como numerosas citoquinas que actúan en cascada, contribuyendo en la destrucción de las articulaciones. Las articulaciones son las uniones entre huesos que hacen que el esqueleto sea flexible, el revestimiento interno del espacio articular está formado por cartílago y fluido sinovial, el cartílago actúa como tejido conectivo, mientras que la membrana sinovial ayuda a lubricar la articulación, además de contener células sinoviales y macrófagos, está rodeada por vasos sanguíneos y vasos linfáticos que la nutren constantemente.^{1,10} La AR es típicamente desencadenada por la combinación de factores genéticos y ambientales como la dieta, la exposición a toxinas, estatus socio económico y el tabaquismo.^{11,12} Otro factor que puede desencadenar son las infecciones por varios microorganismos, entre los que se encuentran *Porphyromonas gingivalis*, sin embargo, los factores genéticos contribuyen al 50% del riesgo de desarrollo de la enfermedad. Entre los genes más estrechamente relacionados con la susceptibilidad son del MHC de clase II, HLA-DR1 y HLA-DR4.^{13,14}

La figura 2 describe a la AR como una patología que comprende estadios discretos, un evento de inicio preclínico conduce a la modificación genética que genera pérdida de tolerancia hacia las proteínas que han sufrido modificaciones tradicionales (acetilación, citrulinación, metilación fosforilación), este evento genera una respuesta linfocitaria y las proteínas modificadas son llevadas por los macrófagos y las células dendríticas hacia los ganglios linfáticos para producir autoanticuerpos, como el factor reumatoide (FR) y los anticuerpos cíclicos citrulinados (ACPA).^{14,15,16} La segunda etapa comprende la fase clínicamente aparente de la enfermedad, cuando la inflamación sinovial se hace evidente, esto es debido a que los anticuerpos y linfocitos llegan a las articulaciones liberando IL-17, IL-7 e IFN- γ para reclutar y activar a los macrófagos que liberan TNF- α , IL-1, IL-6 para estimular la proliferación de células sinoviales. Esta lluvia de citoquina estimula la creación del pannus. El pannus es una proliferación de la membrana sinovial que se compone de fibroblastos y células inflamatorias.^{13,17,18}

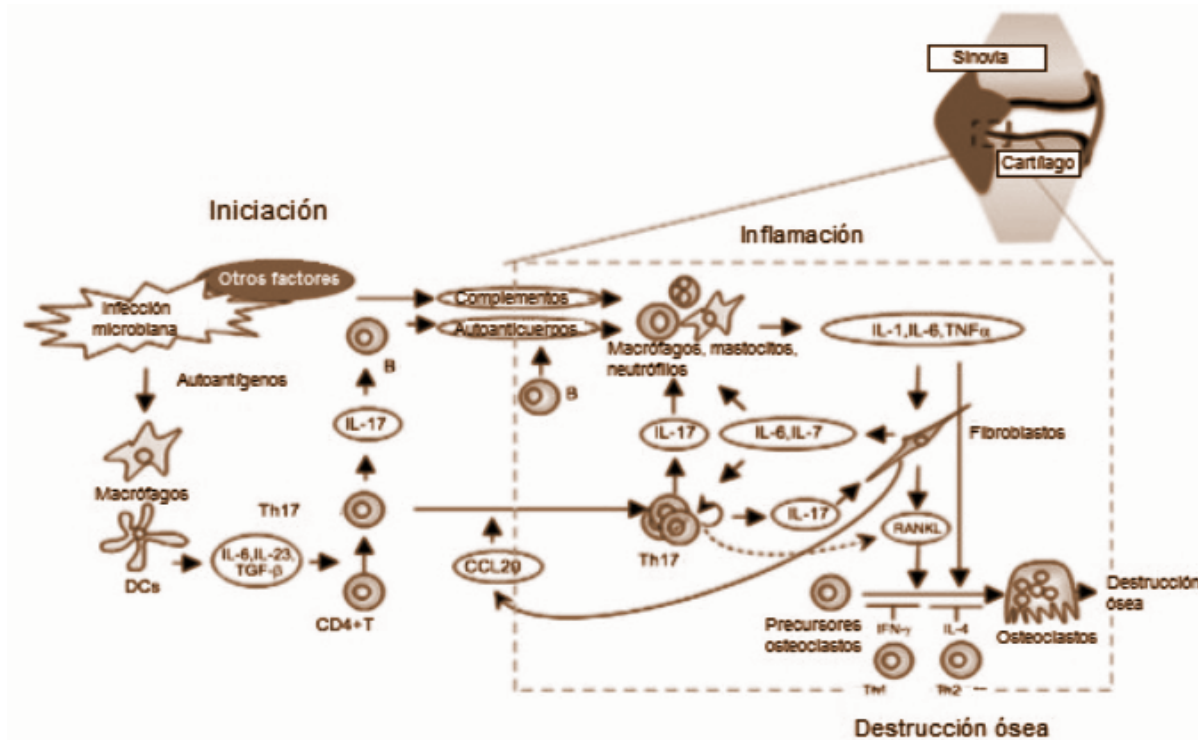


Figura 2 Posible mecanismo de iniciación, inflamación y destrucción ósea en la AR. (Komatsu and Takayanagi, 2012)

Una tercera fase destructiva es donde el cartílago, el hueso y las estructuras periarticulares se erosionan y se pierde la integridad estructural de las superficies articulares, esto debido a la angiogénesis, el reclutamiento de más células antiinflamatorias, activación de osteoclastos y producción proteasas, los complejos autoinmunes formados por los anticuerpos y los autoantígenos se acumulan en el líquido sinovial y activan el sistema de complemento que destruye de manera sistémica otras articulaciones.¹⁸ Con el tiempo, esto conduce a la etapa final, representada por la deformidad y la discapacidad, incluidos los resultados no articulares asociados con la enfermedad, como la muerte prematura. Un ejemplo de esto son las citocinas que escapan por el torrente sanguíneo hacia todo el cuerpo creando problemas extraarticulares.^{18,19}

2.2.3 La vía de señalización de la proteína quinasa (MAPK)

Las cascadas de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) es un componente en la transducción de señales de células eucariotas. Su principal función es transducir los estímulos extracelulares, reconocidos por los receptores de la célula (PPR), a un gran número de moléculas diana que, en relevo, integran respuestas intracelulares altamente específicas al

estímulo inicial. Así pues, las MAPKs regulan procesos de mitosis, cambios en los patrones de expresión génica, movimiento, metabolismo y muerte celular programada, lo que permite a las células sobrevivir, proliferar, inducir apoptosis e interactuar con múltiples tipos celulares, etc.⁴⁷

En la AR, la vía MAPK contribuye a la sobreexpresión de citoquinas proinflamatorias, quimioquinas, metaloproteinasas y enzimas de señalización como COX-2 en el sinovio inflamado. La proteína p38 fosforilada se detecta en las células endoteliales vasculares de los vasos sanguíneos que infiltran la membrana sinovial, donde regula la expresión de genes que codifican moléculas de adhesión celular. El activador del receptor de NF- κ B o ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B (RANK) desempeña un papel fundamental en la diferenciación y activación de los osteoclastos y, por lo tanto, en la osteólisis inflamatoria que acompaña a la AR. La interacción de RANK con su ligando RANKL activa p38, que a su vez aumenta la expresión y actividad de factores de transcripción que promueven la expresión de catepsina K, fosfatasa ácida resistente a tartrato y otros genes esenciales para la función de reabsorción de los osteoclastos.⁴⁷ En los condrocitos, la vía p38 MAPK se ha implicado en la expresión de la metaloproteinasa, que contribuye a la degradación del cartílago. Por lo tanto, p38 está claramente involucrado en la abundante expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, aumento de la vascularización y reclutamiento de linfocitos y degradación proteolítica de huesos y cartílagos. Por otro lado, las citoquinas proinflamatorias como TNF e IL-1 en la articulación inflamada probablemente contribuyen a la activación de p38 MAPK. También puede haber activación de la ruta por ligandos generados localmente a través del daño celular o proteólisis de la matriz extracelular.⁴⁶

2.2.4 Macrófagos

Los macrófagos, generan citoquinas que contribuyen a la destrucción del cartílago y el hueso. Proceden de los monocitos y se forman en la médula ósea. Habitualmente están en estado de reposo y pueden ser activados por diversos estímulos durante la respuesta inmune, en las membranas sinoviales de pacientes con AR dan lugar a la infiltración de células T a través de la presentación de antígenos. Esta acción desencadena la infiltración de células B y la producción de autoanticuerpos de forma sistémica.^{13,18}

2.2.5 Linfocitos B

Los linfocitos B o células B están encargadas de la respuesta inmunitaria específica (adaptativa), participan activamente en la sinovitis de la AR mediante más de un mecanismo, en primer lugar, actúan como células presentadoras de antígeno estimulando a las células T para su desarrollo, activación y su diferenciación, concretamente en células Th17 que producen autoanticuerpos y liberan TNF- α , IL-1 β , IL-12, IL-17, IFN- γ e IL-6 todas con

actividad proinflamatoria. Por otro lado, las células B pueden activar a los osteoclastos a través de la expresión de RANK y la producción, diferenciación y activación de ACPA.^{22,23}

2.2.6 Linfocitos T

Los linfocitos T o células T constituyen el 50% de las células presentes en la membrana sinovial de pacientes con AR, su activación desencadena la proliferación de células sinoviales y endoteliales, el reclutamiento de otras células proinflamatorias presentes en la circulación sanguínea, como monocitos, macrófagos y células B, también liberan citocinas que promueven la producción de autoanticuerpos. Los principales tipos células T son las colaboradoras (Th) que expresan en su membrana la glicoproteína CD4+, las citotóxicas (Tc) que expresa en su membrana la glucoproteína CD8+ y células T reguladores (Treg).^{1,20}

Las células T CD8 + están involucradas en la integridad de las células que han sufrido infecciones o daño ya que son capaces de inducir apoptosis. Por otro lado, las células T CD4 + son el principal subtipo de células T que se encuentra cerca de las células dendríticas y los macrófagos participando en el proceso de inflamación. En el tejido sinovial, las células T CD4 + proliferan y se diferencian principalmente en células de memoria, células efectoras Th1 y Th17 que producen IL-17 e IL-23, que regulan la inflamación característica de la AR.²⁰

También están las células T reguladoras, una subpoblación especializada que actúa suprimiendo la activación del sistema inmunitario mediante la inhibición de células T efectoras, manteniendo así su homeostasis y favoreciendo la tolerancia a lo propio, sin embargo, en pacientes con AR parecen ser funcionalmente defectuosas, pues se ha demostrado que son incapaces de suprimir eficazmente las respuestas inflamatorias.²¹

2.2.7 Citoquinas

Las citoquinas se producen como consecuencia de la activación local de las células T y macrófagos, están involucradas en procesos biológicos importantes como el crecimiento, activación celular, inflamación, inmunidad y diferenciación,⁴ en la AR tienen un papel importante porque activan a las células sinoviales para que produzcan enzimas hidrolíticas que destruyen el cartílago, ligamentos y tendones de las articulaciones,²⁴ las citoquinas reciben su nombre dependiendo las células de las que provienen, de linfocitos se denominan linfocinas, monocinas (monocitos), adipoquinas (adipocitos), miocitos (miocitos) o interleucinas (leucocitos).¹

Las citoquinas no tienen un único efecto y su equilibrio depende de complejas interacciones, una de sus funciones es la regulación de la inflamación, diferenciándose en proinflamatorias y antiinflamatorias. Aunque ninguna de las fases del proceso inflamatorio depende de una sola

citoquina en la AR predominan las citoquinas proinflamatorias sobre las antiinflamatorias. 24 Un ejemplo de esto es la IL-17 que potencia la actividad de otras citoquinas proinflamatorias y estimula la diferenciación de los osteoclastos, induciendo la degradación del cartílago, de manera similar, IL-6 es secretada por macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, queratinocitos, células endoteliales, fibroblastos, sinoviocitos y células tumorales, se sabe que controla múltiples procesos biológicos como la respuesta inmune innata y específica, la inflamación, la hematopoyesis, la sinovitis y la resorción ósea. IL-6 se detecta raramente en personas sanas. La figura 3 muestra las interacciones entre células e interleucinas involucradas en la AR, donde también participan las ADAMTS que son un grupo de proteínas de las cuales las metaloproteinas (MMP) tales como gelatinasas, estromelinas y colagenasa están involucradas en el equilibrio entre la síntesis y degradación de los componentes del cartílago articular.²⁵

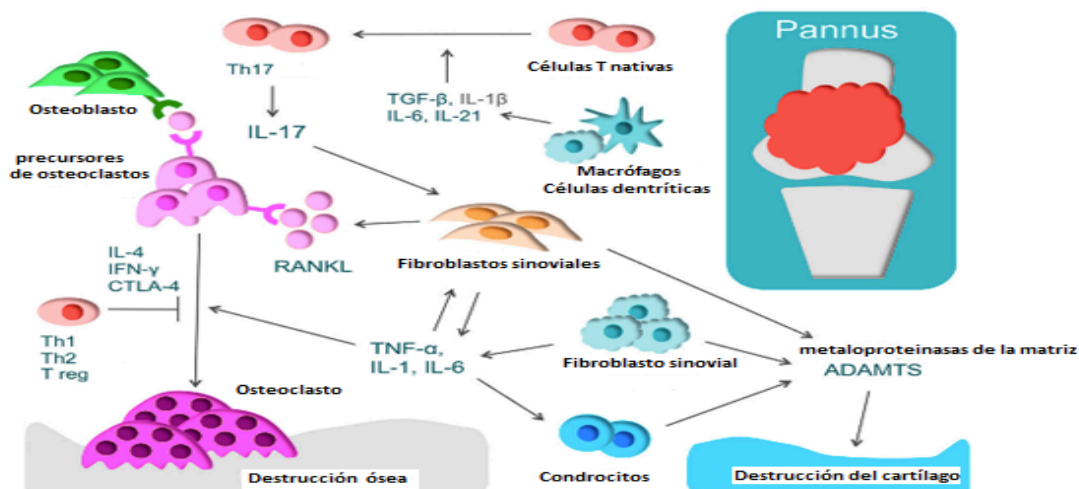


Figura 3 Citoquinas en la AR (McInnes, I. B., & Schett, G. 2011)

2.2.8 Osteoclastos

La inflamación crónica en la AR suele ir acompañada de destrucción ósea, debida principalmente a la excesiva actividad de resorción ósea continua de los osteoclastos, la interacción entre los osteoclastos, las células T y macrófagos estimulan la diferenciación de osteoclastos rompiendo la homeostasis en el sistema osteoclastos/osteoblastos, estos últimos encargados de la formación ósea.²⁴

2.2.9 Otras células Inflamatorias

Las células dendríticas son un tipo de fagocito y de célula presentadora de antígeno (CPA). En la AR existe el proceso autoinmune que involucra una presentación anormal de autoantígenos por parte de las CPA, que lleva a la activación de células T CD4+.²⁶ Los mastocitos y los basófilos son fuentes importantes de histamina y serotonina, que producen vasodilatación y aumenta la permeabilidad vascular.³ Los fibroblastos sinoviales están encargados de promover las metaloproteínas que degradan el cartílago. Por otro lado, el óxido nítrico producido por macrófagos actúa como un radical libre, en el líquido sinovial de las articulaciones humanas sanas contienen valores muy bajos de NO. Sin embargo, el líquido sinovial procedente de pacientes con AR posee altas concentraciones de NO, el NO es un factor que favorece la degradación del cartílago articular.²⁷

2.3.- Los tratamientos Farmacológicos

La tabla 1 enuncia las alternativas farmacológicas para la AR, la primera alternativa son los fármacos modificadores de la enfermedad (FARMES) las cuales tienen un efecto inhibitor de la respuesta inmunológica adaptativa, bloquean las cascadas de activación intracelular y propician el descenso de los niveles de anticuerpos, generalmente su uso es combinado con antiinflamatorios no esteroideos (AINES) o glucocorticoides para disminuir el dolor y la inflamación.⁵ Por otra parte, la alternativa farmacológica más reciente es el empleo de los agentes biológicos, proteínas de origen biotecnológico diseñadas para bloquear de manera selectiva citocinas y proteínas asociadas en la regulación de la inflamación, sin embargo, son bien conocidos sus efectos adversos.^{28,29}

Grupo Terapéutico	Fármacos	Mecanismos de Acción	Efectos Adversos
-------------------	----------	----------------------	------------------

FARMES	Sulfasalazina, Leflunomida, Hidroxicloroquina , Metotrexato	Inhíbe la secreción de citocinas proinflamatorias, disminuye la interacción entre las células T con las células presentadoras de antígeno, interviene en el metabolismo de purinas y bloquea la proliferación celular y la respuesta inflamatoria.	Diarrea, dolor abdominal, náuseas, exantema, alopecia, daño hepático, daño renal, aumento de la tensión arterial, efecto teratogénico, daño retiniano y aumento de actividad de las enzimas hepáticas. ^{5,28}
AINES glucocorticoides	Naproxeno, Paracetamol, Prednisona	Disminución de citocinas, de la síntesis de eicosanoides, de IgG. Inhíbe COX-1 y COX-2, produciendo efectos antiinflamatorios y analgésicos.	Reacciones alérgicas graves, malestar estomacal, acidez, náuseas, daño hepático y úlceras gástricas. ⁵
Agentes Biológicos	Infliximab, Tocilizumab	Inhíbe la acción de citocinas y reguladores proinflamatorios (TNF- α , IL-1, IL-6, etc.)	Infecciones graves, leucoencefalopatía multifocal progresiva, formación de autoanticuerpos. ²⁹

Tabla 1 Alternativas farmacológicas para la AR.

2.4.- Productos naturales y su importancia

Las plantas medicinales se han utilizado en tratamientos farmacológicos humanos durante mucho tiempo, debido a que los tratamientos actuales para la AR provocan efectos secundarios no deseados y tienden a ser costosos, en contraste con los productos naturales que carecen de tales desventajas y ofrecen una nueva oportunidad de tratamiento, diferentes estudios sugieren su uso. Por ejemplo en diferentes estudios con modelos animales, se pudo comprobar que el extracto de *Camellia sinensis* (Té verde) tiene un efecto antiinflamatorio, debido a su alto contenido de polifenoles, principalmente epigalocatequina-3-galato que promueve la disminución de citocinas tales como IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , así como la disminución de NO, PGE2 y de las metaloproteasas MMP-1 y MMP-3;³⁴ basados en un mecanismo biológico semejante, se ha comprobado que *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) poseen

también efectos antioxidantes y antiinflamatorios que provocan una disminución significativa de la inflamación articular y el dolor.³⁵

Por su parte, el extracto de *Lepidium meyenii* (Maca), además de mostrar efectos antiinflamatorios en modelos animales y en células, parece promover la restauración de la articulación, por un mecanismo que sugiere la estimulación de IGF-1 (hormona del crecimiento) por los condrocitos.³⁶ También se ha sugerido que el extracto de *Tripterygium wilfordii* Hook F (Liana del trueno) posee un efecto antiinflamatorio alterando la expresión de MMP, IL-1 β , IL-17 y TNF- α en fibroblastos, macrófagos y condrocitos de ratón.³⁷ Por otro lado el aceite esencial de *Nigella Sativa* (Comino negro) se usó en un estudio clínico reduciendo la inflamación en pacientes con AR debido que a modula las respuestas inmunes mediadas por células T y B.³² Por último, dentro de los medicamentos de uso tópico se conoce que el extracto alcohólico de *Papaver somniferum* (Amapola) y *Cannabis sativa* tienen efecto antiinflamatorio y analgesico.³⁸ Estos estudios justifican la evaluación clínica del uso de extractos estandarizados de plantas en la inflamación y la AR.

2.5.-El Género Stevia

El género *Stevia* tiene una distribución que abarca desde el sur de los Estados Unidos hasta la región andina de América del sur, crece en una amplia gama de entornos, incluidos pastizales, matorrales, laderas de montañas boscosas, bosques de coníferas y con mayor frecuencia habitan terrenos montañosos semisecos.^{40,41} Se estima que el número de especies dentro del género es de más de 230, la mayoría de las especies se encuentran en América del sur donde son aproximadamente 120 especies, más de 80 especies están en América del Norte y 150 han sido reportadas encontradas en México de las que 70 son nativas.⁴⁰ El género es conocido mundialmente por la especie *Stevia rebaudiana*, popularmente llamada "Stevia", que produce grandes cantidades de esteviósido. El esteviósido es el edulcorante más abundante que junto con otros glucósidos diterpénicos se acumula en las hojas, por ello, los extractos acuosos de *S. rebaudiana* se utilizan comercialmente para endulzar diferentes productos.⁴²

El género *Stevia* tiene una amplia variedad en su composición química, la cual ha sido blanco de estudios fitoquímicos que han permitido encontrar algunos de los metabolitos que presenta esta especie, tales como ácidos fenólicos, flavonoides, aceites esenciales, derivados de la acetofenona, benzofurano, cromeno, sesquiterpenos, diterpenos, tetracíclicos, triterpenos y esteroides.⁴² Varios de los compuestos obtenidos de *Stevia* son conocidos por poseer actividades biológicas importantes por ejemplo, los flavonoides han mostrado tener actividades antimicrobianas, antifúngicas, anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes; por su parte los sesquiterpenos suelen ejercer actividad proapoptótica.⁴³ Numerosas especies de *Stevia* son conocidas por sus usos etnofarmacológicos, algunas como *S.*

cardíaca Perkins que es utilizada para el tratamiento de condiciones cardíacas, *S. balansae*, *S. trifida* como antidiarreico, y *S. eupatoria*, junto con *S. Pilosa* como diurético.⁴⁴

3.-Hipótesis

Las especies del género *Stevia* poseen actividad farmacológica antiinflamatoria, por lo que es posible identificar y clasificar a los extractos y metabolitos responsables de la actividad, e identificar su viabilidad como posible fuente de nuevos fármacos antirreumáticos.

4.-Objetivo general

Realizar una revisión bibliográfica de la actividad antiinflamatoria y antirreumática de diferentes especies del género *Stevia* para evaluar su potencial como posible fuente de fármaco o fitofármacos.

4.1.-Objetivos específicos

- Realizar una revisión bibliográfica de los 10 últimos años sobre la actividad antiinflamatoria y antirreumática de las especies de plantas del género *Stevia*.
- Identificar las metodologías empleadas para la evaluación de la actividad antirreumática y antiinflamatoria y clasificar sus resultados.
- Identificar los metabolitos y/o extractos reportados como responsables de la actividad antiinflamatoria y antirreumática.
- Evaluar, con base en los resultados de la revisión, el potencial de las plantas de género *stevia* como posible fuente de fármacos o fitofármacos.

5.1.-Materiales y metodología

Se realizará una revisión bibliográfica en bases de datos como Academic Search Premier, ACS publication, Elsevier, PubMed, Redalyc, Scopus, SciFinder, Sciencedirect, Springerlink, Web of Science, del año 2011 al año 2021, sobre la actividad antiinflamatoria y antirreumática de plantas del género *Stevia*. La búsqueda se realizará en idioma español e inglés.

6.-Resultados y Discusión

6.1 Compuestos reportados del Genero *Stevia*

Los principales tipos de compuestos fitoquímicos reportados en el género *Stevia* cuyas estructuras químicas se muestran en la tabla 6 del Anexo, son las lactonas sesquiterpénicas, diterpenos, flavonoides, triterpenos y esteroides, que se encuentran en las partes aéreas y

raíces, siendo los responsables de las actividades terapéuticas en el género *Stevia*.⁴⁹ Se ha reportado actividad antioxidante en la especies *S. Macbridei*, *S. Oraginoides*, *S. Ovata*, *S. Rebaudiana*, *S. Salicifolia* y *S. Vicida*.⁴⁸ También se demostró que *S. Macbridei* contiene quercetina, rutina y ácido gálico, compuestos con actividad antioxidante utilizando modelos in vitro como el ensayo de captación de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo e In vivo en ensayos con levadura.⁵⁰ De manera similar *Stevia pilosa* y *Stevia eupatoria* contienen quercetina, luteolina, β -sitosterol y estigmasterol en su composición, compuestos que han demostrado efecto anticarcinogénico en diversos estudios in vitro e in vivo,⁴² el efecto del extracto metanólico de ambas especies fueron probados sobre la proliferación de células de cáncer de próstata.^{51 53} Además, se ha reportado que el extracto clorometanólico de *S. Sauretifolia*, *S. Alpina*, *S. Gillesi* y *Stevia Maimarensis* contienen eupatorina, cirsimaritina y 5-desmetilsinenetina con actividad contra la enfermedad de chagas. La tabla 2 menciona diferentes especies de *Stevia*, sus efectos estudiados y la zona en donde fueron recolectadas.^{52,54,58}

Espece	Lugar de recolección	Extracto o compuesto aislado	Efecto terapéutico	Mecanismo de Acción
<i>S. Eupatoria</i>	Pachuca de Soto, Hidalgo, México	Extracto Metanólico	Anticarcinogénico	Disminuye la proliferación en líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP y PC-3, y tiene un efecto antimigratorio ⁴²
<i>S. Serrata</i>	San José Chacayá, Sololá, Guatemala	Aceite Esencial	Antinocepuvo	Bloquea los receptores TRPV1 y glutamato, de manera similar a la morfina probado en modelo de inflamación inducida por carragenina en ratón. ⁵⁸
<i>S. Macbridei</i>	Andahuayllillas, Cusco, Perú	Extracto Acuoso	Antioxidante	Capacidad Antioxidante similar al Acido Absocrobico, probado in vitro e in vivo. ⁵⁰
<i>S. Sauretifolia</i>	Rios, Buenos Aires, Argentina	Extracto diclorometanólico	Actividad tripanocida y leishmanocida	Actividad contra los amastigotes de <i>T. cruzi</i> y <i>L. braziliensis</i> promastigotes ⁵⁴

S. <i>Subpubence</i>	Ciudad Sagun, Pachuca de Soto, Hidalgo	Extracto Metanolico	Antiinflamatorio	Reduce el total de células inflamatorias, macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos. Ayanin (10~100 $\mu\text{mol/kg}$, p.o.) atenuó significativamente la liberación de IL-2 IL-4, IL-5 y TNF- α .
-------------------------	---	---------------------	------------------	---

Tabla 2 Estudios sobre las actividades terapéuticas del género Stevia

6.2 S. Serrata

La figura 6 se muestran los diferentes mecanismos antiinflamatorios de Stevia, por ejemplo *Stevia serrata* es nativa de México, Colombia, Ecuador, Venezuela, Honduras y Guatemala, también se le conoce como cola de borrego, chipatoria, burrillo y tlassivaca, suele emplearse como remedio para problemas intestinales y para acelerar la fermentación de algunas bebidas.⁵⁶ En la figura 4 se puede apreciar a *S. Serrata* que tiene hojas alternas, brácteas del involucreo con gotitas de exudado resinoso sobre su superficie (sin pelos glandulares), flores blancas, puede alcanzar los 80 cm de altura.

En 2019 Daniel Rey et al. analizaron la composición del aceite esencial (AE) de *Stevia serrata* de una población ubicada en el altiplano occidental de Guatemala identificando el 91% de sus componentes, demostrando que contiene camazuleno, nerolidol, óxido de cariofileno y germacreno D mostrados en la tabla 3.^{56 57} Determinaron la actividad antinociceptiva en ensayos con ratas (ensayo de placa caliente, formalina e hiperalgesia térmica con carragenina), para poder medir dicha actividad los ratones recibieron una inyección intraperitoneal de naloxona (antagonista no selectivo de los receptores opioides), atropina (antagonista no selectivo de los receptores muscarínicos) y L-NAME (inhibidor de la enzima óxido nítrico sintasa) 15 min antes de la administración oral de AE.⁵⁸

Compuesto	%
linalol	0.8
eugenol	0.3
β -elemeno	0.4
cariofileno	2.9
α -humuleno	0.4

germacreno-D	5.4
biciclogermacreno	1
E-nerolidol	7.3
espatulenol	4.3
oxido de cariofileno	6.3
camazuleno	60.1
compuestos NI	1.3
Total	91

Tabla 3 Composición de *S. serrata* identificado por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (Reis 2019)

Identificaron que el efecto analgésico del AE de *S. serrata* se debe a las altas concentraciones de camazuleno, y que está mediado por la vía glutamatérgica bloqueando los receptores TRPV1 y glutamato.⁵⁶ La vía de glutamato es el mediador de la transmisión sináptica excitatoria en el sistema nervioso central y activa varios eventos intracelulares, como la alteración de los niveles de calcio intracelular, la activación de mediadores celulares y la apertura de canales iónicos, también induce la liberación de aminoácidos excitatorios, PGE2, NO y cininas.⁵⁸



Figura 4 1 *Stevia Serrata* 2 *Stevia Subpubences* 3 *Stevia Rebaudiana*

6.3 S. Subpubences

Stevia ubpubences es reconocida como una especie nativa de México y crece en todo el territorio del país.⁵⁹ En un estudio realizado por la Universidad Nacional Autónoma de México se identificaron 14 compuestos tales como estigmasterol, estigmasterilo, β -sitosteril, 4'-O-metilsakuranetin, sakuranetin, 3,7,4'-O-trimethylkaempferol, ayanin, ermanin, hiperina, ácido cistenólico, labdanólico, escoparona y melilotósido. Las estructuras de estos compuestos fueron dilucidadas por análisis de sus características espectroscópicas y se realizó el ensayo de edema en pata de rata inducido por TPA demostrando que el principal compuesto responsable de la inhibición de inflamación fue ayanin, debido a que reduce el total de células inflamatorias, macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos, además de inhibir la liberación de IL-2, IL-4, IL-5 y TNF- α .⁶⁰

6.4 S. Rebaudiana

S. rebaudiana es una especie nativa del suroeste de Brasil y Paraguay, fue descrita a finales del siglo XIX por el suizo Moisés Bertoni en el alto Paraná, el término rebaudiana proviene del químico paraguayo Ovidio Rebaudi, quien fue el primero que analizó la composición química de la planta y los componentes responsables de su sabor dulce, el esteviol y sus glucósidos,⁶² se muestra en la figura 5 la estructura del esteviol, en la tabla 4 se muestran las estructuras químicas y peso molecular de los glucosidos: esteviósido, rebaudiósido (A, B, C,D, E y F), esteviolbiósido, rubososido y dulcósido A, todos encontrados principalmente en las hojas de la planta.⁶¹ El esteviósido representa del 4-13% de glucósidos de esteviol en la hoja seca mientras que rebaudosido A representa 2-4%. Sin embargo, este último compuesto le confiere entre 180-400 veces más dulce que la sacarosa.⁶³

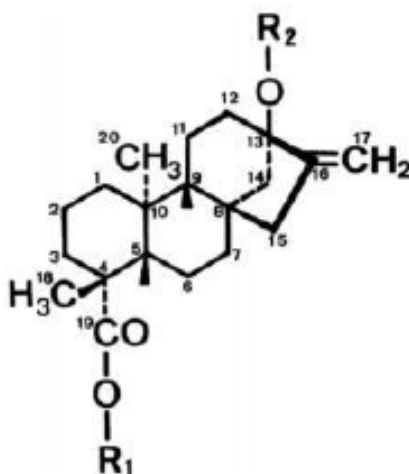


Figura 5 Estructura química del Steviol

COMPONENTE	R1	R2	Peso Molecular
Steviósido	β -Glc	β -Glc- β -Glc (2—1)	804.88
Rebaudiósido A	β -Glc	β -Glc- β -Glc (2—1) β -Glc (3—1)	967.01
Rebaudiósido B	H	β -Glc- β -Glc (2—1) β -Glc (3—1)	804.87
Rebaudiósido C	β -Glc	β -Glc- β -Glc- α - Rha (2—1) β -Glc (3—1)	951.03
Rebaudiósido D	β -Glc- β -Glc (2—1)	β -Glc- β -Glc (2—1) β -Glc (3—1)	1129.17
Rebaudiósido E	β -Glc- β -Glc	β -Glc- β -Glc (2—1)	966.43
Rebaudiósido F	β -Glc	β -Glc- β -Xyl (2—1) β -Glc (3—1)	936.98
Dulcósido A	β -Glc	β -Glc- α -Rha (2—1)	788.87
Rubosósido	β -Glc	β -Glc	642.7316
Steviolbiosido		β -Glc- β -Glc (2—1)	642.73

Tabla 4 Estructura química y peso molecular de los glucósidos de esteviol (Aranda *et al.*, 2014).

Se sabe que los azúcares simples contribuyen al aumento de peso y provocan otros efectos perjudiciales para la salud.⁶⁴ El uso de la Stevia como edulcorante bajo en calorías reduce la ingesta de azúcares simples y, en consecuencia, se ha relacionado con propiedades antiobesidad, esto significa que los glucósidos de estevia además de ser una alternativa para la industria alimenticia, se reconocen por sus propiedades terapéuticas, por ejemplo, se ha demostrado una acción beneficiosa durante la respuesta glucémica posprandial, ya que reduce la glucosa en la sangre y tienden a potenciar la secreción de insulina al estimular las células β en el páncreas.⁶⁵ Otros efectos observados en estudios in vitro ha sido el antioxidante, protector y proapoptótico, demostrándose que los extractos etanólicos de hojas de la planta ayudan a prevenir la propagación de agentes responsables del daño del ADN (radicales libres y superóxidos),⁶⁶ este efecto reduce el daño celular, la carcinogénesis y el desarrollo de tumores⁶⁸. También se han demostrado sus propiedades bactericidas actuando sobre *Streptococcus mutans*, responsable de las caries dentales⁶⁹. Además, ayuda a disminuir la presión arterial mediante la excreción de la orina y cantidad de sodio en el cuerpo⁶⁷ Son numerosos los efectos terapéuticos debidos a los glucósidos y también a sus componentes tales como el ácido gálico, ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido protocatecuico, ácido rosmarínico, ácido salicílico, canferol, catequina, epicatequina, luteolina y rutina.⁷⁰

Varios estudios mostrados en la tabla 5 han indicado las propiedades antiinflamatorias de la Stevia y sus componentes utilizando diferentes modelos in vivo e in vitro. Latha y Shetal en 2017 estudiaron la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de hojas de stevia (500 mg / kg) reportando que previene la inflamación y también reduce el daño oxidativo en el hígado de ratones predominantemente al alterar el nivel de citocinas proinflamatorias como el TNF- α , IL-1 β e IL-6^{71, 72}. también Meng et al 2018 demostraron que el esteviósido puede suprimir la secreción de citocinas proinflamatorias en macrófagos después de ser estimulados con lipopolisacáridos de una manera dependiente de la dosis.⁷³ Otro estudio declaró que el esteviósido a 200 μ M suprimió la respuesta inflamatoria inducida por partículas de titanio en macrófagos derivados de la médula ósea y previno la osteólisis en ratones tratados con partículas de titanio (con una dosis de 10 o 30 mg / kg), según sus hallazgos, el esteviósido confería actividad antiinflamatoria a través de la regulación a la baja de dos vías principales, la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y el factor nuclear kappa B (NF- κ B).⁷⁴

Boonkaewwan y Burodom 2013 en Tailandia informaron hallazgos similares, que explicaron que el esteviósido suprimió la liberación de TNF- α , IL-1 β e IL-6 e inhibió del NF- κ B impidiendo la fosforilación de la proteína I κ B α .⁷⁵ De manera similar, el esteviósido pudo reducir la inflamación en modelo de ratón infectado por *Staphylococcus aureus* través de acciones en MAPK y NF- κ B,⁷⁶ el grupo de investigación realizó inicialmente un estudio sobre células epiteliales mamarias primarias de ratón infectadas con *S. aureus* y descubrió que el esteviósido era capaz de inhibir la secreción de citocinas inflamatorias como el TNF- α , IL-1 β e IL-6, probablemente a través de acciones en las vías MAPK y NF κ . Además de ayudar eficazmente en el tratamiento de mastitis inducida por *S. aureus*, el esteviósido pudo prevenir la muerte celular de células infectadas mediante la regulación a la baja de la expresión de receptores tipo Toll (TLR), que es un actor clave en la regulación de la inflamación y la apoptosis.⁷⁶ Por último Kim et al.2012 y Holvoet et al. 2015 demostraron que otros glucósidos como el Rebaudiósido A y la astroinulina tienen una actividad similar a través de la regulación a la baja de dos vías principales, la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y el factor nuclear kappa B (NF- κ B), además de inhibir la producción de NO.^{77, 78}

Compuesto	Desarrollo experimental	Mecanismo de acción	Referencia
steviosida (10 mg/kg)	In vivo: musculo de rata winstar	mejora la activación de las células satélite inhibe la vía de señalización NF- κ B	(Bunprajun, et al. 2012)

astroinulina (2.5, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$)	In vitro: macrófagos RAW 264.7, western blot	inhibe la producción aumentada de óxido nítrico (NO) y la expresión inducible de óxido nítrico sintasa (iNOS) en macrófagos activados por lipopolisacáridos (LPS)	(Kim et al.2012)
esteviosido (50, 100 y 200 mg/ml)	In vitro: macrófagos RAW 264.7, ELISA, PCR y Western blot	Inhibe de forma dependiente de la dosis la expresión de NF- κ B, la IL-6 e IL-1 β en células RAW264.7 estimuladas con LPS/Suprime la degradación de I κ B α , la fosforilación de ERK, JNK y P38	(Fengyang, Li, et al. 2012)
esteviosido (0.01-1 mmol) esteviol (1-100 $\mu\text{mol/l}$)	In vitro: células de carcinoma en colon (Caco-2), ELISA	Atenúa la producción de TNF- α , IL-1 β , IL-6 y la expresión de la vía de señalización de I κ B α /NF- κ B	(Boonkaewwan & Burodom.2013)
esteviosido (12.5, 25 y 50 mg/kg)	In vivo: lesión en pulmón en ratones BALB/c, ELISA, MPO, Western blot	inhibe la vía de señalización de NF- κ B y la producción de citocinas proinflamatorias, COX-2 e iNOS	(Yingkun, Nie, et al. 2013)
esteviósido (30, 100 y 300 $\mu\text{g / ml}$)	In vitro: células epiteliales mamaria de ratón (MMECs), ELISA, PCR, western blot	suprime la activación de las vías MAPK y NF- κ B en ratones infectados con Staphylococcus aureus/Disminuye la expresión genética de los receptores TLR2 y citocinas	(Wang et al. 2014)
esteviósido (10 mg / kg) rebaudiósido A (12 mg / kg) esteviol (5 mg / kg)	In vivo: hígado de ratones, PCR	disminuye la esteatosis hepática actuando sobre el metabolismo de lípidos y glucosa reduciendo la inflamación al suprimir la expresión genética de NF- κ B	(Holvoet et al. 2015)

extracto hidroalcohólico de stevia (500 mg / kg), esteviósido 250 mg / kg extracto acuoso de stevia (100 mg / kg)	In vitro: DPPH, actividad de eliminación de radicales de óxido, actividad de eliminación de radicales superóxidos/ In vivo: rata (hígado), ELISA	eliminación de radicales de óxido nítrico, Reducción del estrés oxidativo hepático, reduce la expresión de TNF- α , IL-1 β y IL-6	(Latha y Shetal 2017)
esteviósido (In vitro 200 μ M/In vivo 10, 30 mg / kg)	In vitro: macrófagos derivados de la médula (BMM)/ In vivo - ratones	reducción de la expresión de TNF- α , IL1- β , IL-6, IL-10	(Meng et al 2018)
esteviósido (in vitro 5, 10, 20 y 40 mM/ In vivo -20 mg / kg) rebaudiósido A (In vitro 15, 10, 20 y 100 mM/ In vivo - 20 mg / kg)	In vitro: HSC humanas, transferencia, qRT-PCR, DPPH; In vivo - ratas (hígado y sangre), IHC, western blot, PCR, DPPH	previene fibrogénesis, mejora el estrés oxidativo y suprime la expresión de NF- κ B y citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-1 β , IL-6	(Ramos et al. 2018)

Tabla 5 Estudios In Vivo e In vitro sobre los glucosidos de Stevia con propiedades Antiinflamatorias, antioxidantes e inmonomoduladoras.

Por otro lado Alavala et al. estudiaron el efecto antiinflamatorio crónico del esteviósido en el modelo de edema en pata inducido por carragenina en ratas y en el modelo de artritis inducida por adyuvante Freud en ratas. Se analizaron los niveles de PGE2, citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) y citocina antiinflamatoria (IL-10), así como la expresión de proteínas de NF- κ B (p65), COX-2 e iNOS, concluyeron que el tratamiento con esteviósido mejora significativamente la puntuación artrítica inducida por adyuvantes, las alteraciones histológicas, el volumen de la pata e se impidió el aumento de la actividad de la mieloperoxidasa, sugiriendo que el esteviósido puede servir como agente antiinflamatorio y podría servir como una posible opción terapéutica complementaria en el tratamiento de la AR.⁸²

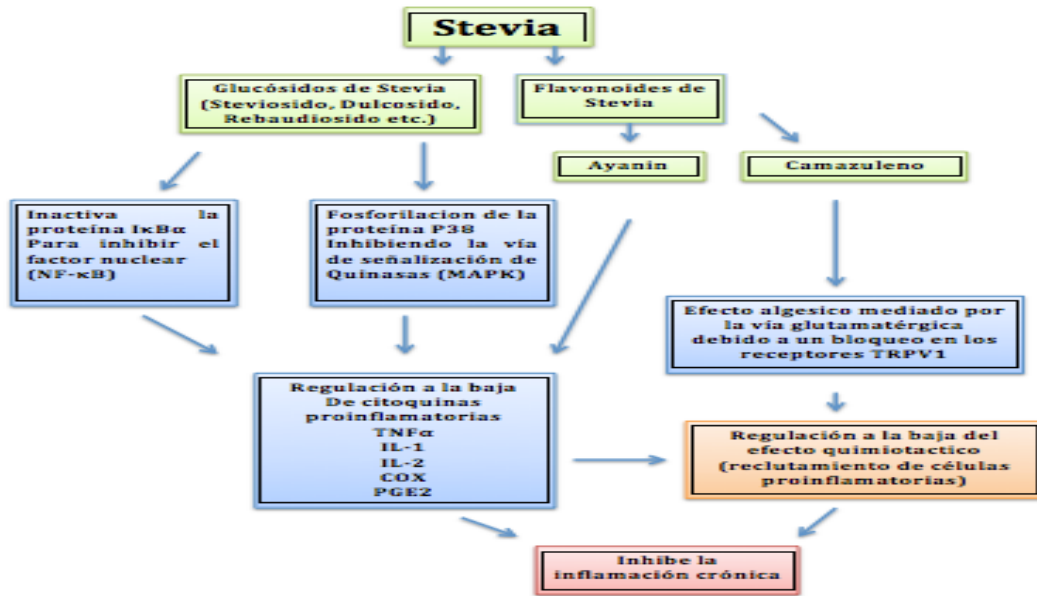


Figura 6

Mecanismos de acción de Stevia en la inflamación

7.-Conclusiones

Algunos compuestos presentes en el género Stevia como el flavonoide ayanin y camazuleno ayudan a mitigar el dolor y reducir la infiltración de células y mediadores proinflamatorios al actuar sobre los receptores en el sistema nervioso. Por otro lado, los glucósidos de steviol en *Stevia Rebaudiana* han demostrado prevenir la inflamación al inhibir la producción de citocinas y NO mediante la regulación a la baja de las vías de señalización MAPK y NF-κB. Demostrando que el uso de Stevia puede ser una alternativa como terapia de apoyo en la AR.

8.-ANEXO

8.1.-GLOSARIO

PGE2 (prostaglandina): sustancias de naturaleza similar a las hormonas que participan en una amplia gama de funciones corporales, como la contracción y relajación del músculo liso, la dilatación y constricción de los vasos sanguíneos, el control de la presión arterial y la modulación de inflamación

NO (óxido nítrico) : compuesto que es tóxico pero que, paradójicamente, desempeña una serie de funciones importantes en el cuerpo, incluidas las siguientes:

- Actúa como vasodilatador (relajante de los vasos sanguíneos).
- Por lo tanto, controla el flujo de sangre a los tejidos.
- Regula la unión y liberación de oxígeno a la hemoglobina .
- Por lo tanto, controla el suministro de oxígeno a las mitocondrias (centrales eléctricas celulares que generan energía).
- Mata los organismos parásitos, las células infectadas por virus y las células tumorales (al inactivar las enzimas de la cadena respiratoria en sus mitocondrias).
- Estimula la producción de nuevas mitocondrias.

MMP-1 y MMP-3 (metaloproteinas) : grupo de enzimas que pueden descomponer las proteínas, como el colágeno, que se encuentran normalmente en los espacios entre las células de los tejidos (es decir, proteínas de la matriz extracelular). Dado que estas enzimas necesitan cinc o átomos de calcio para trabajar adecuadamente, se llaman metaloproteasas. Las metaloproteasas de matriz participan en la curación de heridas, la angiogénesis y la metástasis de las células tumorales

Angiogénesis: formación de vasos sanguíneos nuevos. Este proceso consiste en la migración, crecimiento y diferenciación de células endoteliales, las cuales recubren las paredes internas de los vasos sanguíneos.

Sinovitis: inflamación (hinchazón, dolor y calor) de la membrana sinovial, que es la capa de tejido conjuntivo que recubre una articulación, como la cadera, la rodilla, el tobillo o el hombro.

HLA-DR1: El gen HLA-DR1 proporciona instrucciones para producir una proteína que desempeña un papel fundamental en el sistema inmunitario. El gen HLA-DR1 es parte de una familia de genes llamada complejo del antígeno leucocitario humano (HLA). El complejo HLA ayuda al sistema inmunitario a distinguir las proteínas propias del cuerpo de las proteínas producidas por invasores extraños, como virus y bacterias. El complejo HLA es la versión humana del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), una familia de genes que se presenta en muchas especies. El gen HLA-DRB1 pertenece a un grupo de genes MHC llamado MHC clase II. Los genes del MHC de clase II proporcionan instrucciones para fabricar proteínas que están presentes en la superficie de ciertas células del sistema inmunitario.

MCH clase 2: Las moléculas MHC de clase II se expresan sólo en la superficie de células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas y linfocitos B), y sirven para presentar péptidos procesados procedentes de antígenos exógenos a los linfocitos T CD4+.

FR : Factor reumatoide es un autoanticuerpo, una inmunoglobulina de tipo IgM producida por el sistema inmunitario del organismo. Los autoanticuerpos atacan a tejidos propios, identificándolos como si fueran estructuras extrañas. A pesar de que no se conoce con certeza la función del FR, su presencia es útil como marcador de actividad inflamatoria y autoinmune.

ACPA: anticuerpos cíclicos citrulinados, son autoanticuerpos producidos por el sistema inmune que van dirigidos contra el péptido citrulinado cíclico. El organismo produce normalmente citrulina como parte del metabolismo del aminoácido arginina. Sin embargo, en las articulaciones de los pacientes con AR esta conversión puede ocurrir a un ritmo mayor. La citrulina cambia la estructura de las proteínas y puede desencadenar una respuesta inmune, produciendo autoanticuerpos contra las proteínas de las articulaciones.

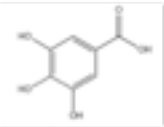
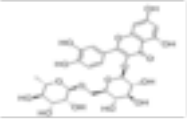
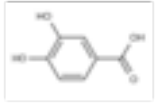
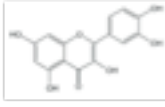
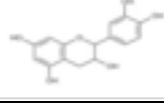
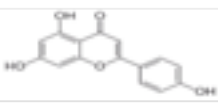
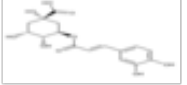
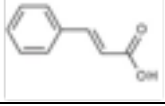
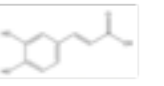
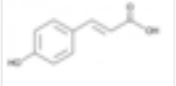
Catepsina K: La degradación de la matriz ósea depende de la actividad de dos clases principales de proteasas, las cisteíno-proteasas y las metaloproteasas de matriz. La cisteíno-proteasa que está presente predominantemente en el osteoclasto, es la catepsina K. La inhibición de esta enzima inhibe la formación de lagunas de resorción osteoclástica de una manera de concentración dependiente.

Metaloproteasas: son enzimas extracelulares cuyas funciones conocidas incluyen el procesamiento de colágeno como N-proteinasa de procolágeno, inhibición de la angiogénesis, la homeostasis de la coagulación de la sangre y también en los tiene participación en la organogénesis, la inflamación y la fertilidad.

Receptores TRPV1: El dolor es resultado del procesamiento de una gran cantidad de señales producidas a diferentes niveles del sistema nervioso central y periférico, que se generan en respuesta a estímulos provenientes del medio ambiente o del organismo mismo. Una de las estrategias para generar nuevos analgésicos consiste en el estudio de las bases moleculares que subyacen en la detección de los estímulos dolorosos, es decir, los receptores. Un receptor de gran importancia para la fisiología sensorial y del dolor es el TRPV1, encargado de la detección de estímulos mecánicos, químicos y térmicos. La activación del TRPV1 en neuronas sensitivas genera señales que llegan al sistema nervioso central, donde se interpretan como dolor, además de provocar la liberación periférica de sustancias proinflamatorias que sensibilizan a otras neuronas a estímulos subsecuentes. El TRPV1 es un receptor estructuralmente similar a otros canales iónicos dependientes de voltaje, con la capacidad de detectar e integrar diversos estímulos del medio ambiente, como temperaturas elevadas nocivas o agentes irritantes. Además, la actividad de este canal se acopla a diversas cadenas de señalización relacionadas con procesos de inflamación.

Receptores de glutamato: El ácido glutámico (Glu) es el principal neurotransmisor excitatorio del sistema nervioso central que interactúa con dos tipos clasificados en dos tipos: metabotrópico e ionotrópico que tienen un papel indispensable en la plasticidad sináptica principalmente por la permeabilidad que tiene al ion Ca^{++} .

8.2 Estructuras químicas de compuestos del Genero Stevia

Compuesto	Especie química	Estructura Química	Compuesto	Especie química	Estructura Química
ácido gálico	ácido fenólico		rutina	flavonoide	
ácido protocatecuico	ácido fenólico		quercetina	flavonoide	
catequina	flavonoide		apigenina	flavonoide	
ácido clorogénico	ácido fenólico		ácido cinámico	ácido fenólico	
ácido cafeico	ácido fenólico		ácido paracumarico	ácido fenólico	

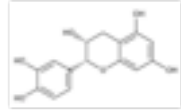
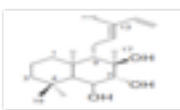
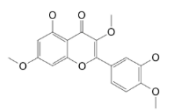
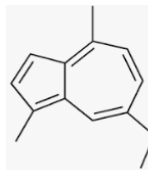
epicatequina	flavonoide		astoinulina	diterpeno	
ayanin	flavonoide		camazuleno	flavonoide	

Tabla 6 Componentes identificados en los extractos acuosos, metanolicos y aceite esencial de Stevia rebaudiana

9.-BIBLIOGRAFIA

1. Firestein, G. S., Budd, R. C., Gabriel, S. E., McInnes, I. B., & O'Dell, J. R. (2018). Kelley y Firestein. Tratado de reumatología: En dos volúmenes. Elsevier Health Sciences.
2. 112 Cardiel, M. H., Díaz-Borjón, A., del Mercado Espinosa, M. V., Gámez-Nava, J. I., Fabris, L. A. B., Tena, C. P., ... & Morales, R. E. (2014). Actualización de la Guía mexicana para el tratamiento farmacológico de la artritis reumatoide del Colegio Mexicano de Reumatología. Reumatología Clínica, 10(4), 227-240.
3. Kennedy, M. A. (2010). A brief review of the basics of immunology: the innate and adaptive response. Veterinary Clinics: Small Animal Practice, 40(3), 369-379.
4. McInnes, I. B., & Schett, G. (2011). The pathogenesis of rheumatoid arthritis. New England Journal of Medicine, 365(23), 2205-2219.
5. Ritter, J. M., Flower, R. J., Henderson, G., Loke, Y. K., MacEwan, D., & Rang, H. P. (2020). Rang Y Dale. Farmacología. Elsevier.
6. Pelt, M. N. (2011). Arthritis : Types, Treatment, and Prevention. Nova Science Publishers, Inc
7. Cross, M., Smith, E., Hoy, D., Carmona, L., Wolfe, F., Vos, T., ... & March, L. (2014). The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. Annals of the rheumatic diseases, 73(7), 1316-1322.
8. Llerena, G. A. R. (2012). Apuntes científicos acerca de un memorable XL Congreso Mexicano de Reumatología. San Luís de Potosí 2012. Revista Cubana de Reumatología, 14(19).
9. Ordinaria, A. D. L. S. M. Colegio Mexicano de Reumatología.

10. Boissier, M. C., Semerano, L., Challal, S., Saidenberg-Kermanac'h, N., & Falgarone, G. (2012). Rheumatoid arthritis: from autoimmunity to synovitis and joint destruction. *Journal of autoimmunity*, 39(3), 222-228.
11. Goulielmos, G. N., Zervou, M. I., Myrthianou, E., Burska, A., Niewold, T. B., & Ponchel, F. (2016). Genetic data: the new challenge of personalized medicine, insights for rheumatoid arthritis patients. *Gene*, 583(2), 90-101.
12. Sugiyama, D., Nishimura, K., Tamaki, K., Tsuji, G., Nakazawa, T., Morinobu, A., & Kumagai, S. (2010). Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Annals of the rheumatic diseases*, 69(01), 70-81.
13. (93) Choy, E. (2012). Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 51(suppl_5), v3-v11.
14. Trenkmann, M., Brock, M., Ospelt, C., & Gay, S. (2010). Epigenetics in rheumatoid arthritis. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 39(1), 10-19.
15. Ajeganova, S., Van Steenberghe, H. W., Verheul, M. K., Forslind, K., Hafström, I., Toes, R. E. M., ... & van der Helm-van Mil, A. H. M. (2017). The association between anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies and radiographic progression in early rheumatoid arthritis: a study exploring replication and the added value to ACPA and rheumatoid factor. *Annals of the rheumatic diseases*, 76(1), 112-118.
16. Okamoto, K., & Takayanagi, H. (2011). Osteoclasts in arthritis and Th17 cell development. *International immunopharmacology*, 11(5), 543-548.
17. Chen, L., Lu, Y., Chu, Y., Xie, J., & Wang, F. (2013). Tissue factor expression in rheumatoid synovium: a potential role in pannus invasion of rheumatoid arthritis. *Acta histochemica*, 115(7), 692-697.
18. Komatsu, N., & Takayanagi, H. (2012). Autoimmune arthritis: the interface between the immune system and joints. *Advances in immunology*, 115, 45-71.
19. Pinheiro, F. A., Souza, D. C., & Sato, E. I. (2015). A study of multiple causes of death in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*, 42(12), 2221-2228.
20. Mellado, M., Martínez-Muñoz, L., Cascio, G., Lucas, P., Pablos, J. L., & Rodríguez-Frade, J. M. (2015). T cell migration in rheumatoid arthritis. *Frontiers in immunology*, 6, 384.
21. Siachoque, H., Satisteban, N., & Iglesias-Gamarra, A. (2011). Linfocitos T reguladores: subpoblaciones, mecanismo de acción e importancia en el control de la autoinmunidad. *Revista colombiana de reumatología*, 18(3), 203-220.
22. Scherer, H. U., Huizinga, T. W., Krönke, G., Schett, G., & Toes, R. E. (2018). The B cell response to citrullinated antigens in the development of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 14(3), 157-169.
23. Moura, R. A., Cascão, R., Perpétuo, I., Canhão, H., Vieira-Sousa, E., Mourão, A. F., ... & Fonseca, J. E. (2011). Cytokine pattern in very early rheumatoid arthritis favours B-cell activation and survival. *Rheumatology*, 50(2), 278-282.

- 24.76 Jung, Y. K., Kang, Y. M., & Han, S. (2019). Osteoclasts in the inflammatory arthritis: Implications for pathologic osteolysis. *Immune network*, 19(1).
- 25.88 Jung, S. M., Kim, K. W., Yang, C. W., Park, S. H., & Ju, J. H. (2014). Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis. *Journal of immunology research*, 2014.
- 26.74 Aguirre Ducler, A. J. (2008). Generación y caracterización de células dendríticas tolerogénicas en pacientes con artritis reumatoide.
- 27.73 Blanco García, F. J., J de Toro, F., & Galdo Fernández, F. (2005). El óxido nítrico y el cartílago articular. *Revista Española de Reumatología*, 32(3), 126-133.
- 28.72 Kahlenberg, J. M., & Fox, D. A. (2011). Advances in the medical treatment of rheumatoid arthritis. *Hand clinics*, 27(1), 11-20.
- 29.71 Akiki, B. (2010). Biologic Treatment for Rheumatoid Arthritis: Efficacy Versus Adverse Events.
30. Domínguez Hernández, L., Hohlatcheff Ávila, A. L., & Montiel Hernández, J. L. (2012). Tratamientos farmacológicos contra alternativos en el manejo de pacientes con artritis reumatoide. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(2), 23-30.
31. 109 Santiago, L. Â. M., Neto, R. N. M., Ataíde, A. C. S., Fonseca, D. C. S. C., Soares, E. F. A., de Sá Sousa, J. C., ... & de Sousa, E. M. (2021). Flavonoids, alkaloids and saponins: are these plant-derived compounds an alternative to the treatment of rheumatoid arthritis? A literature review. *Clinical Phytoscience*, 7(1), 1-10.
32. Sharma, D., Chaubey, P., & Suvarna, V. (2021). Role of natural products in alleviation of rheumatoid arthritis—A review. *Journal of food biochemistry*, 45(4), e13673.
- esquema
33. Arenas-Chavez, C. A., Wiche-Salinas, T., Valencia-Mercado, I., Calle-Valdez, R., Vera-Gonzales, C., Malaga-Contreras, S., ... & Huanqui-Guerra, C. (2018). Efecto antiinflamatorio de la fracción flavonoide de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling (Salvia) sobre leucocitos de pacientes con artritis reumatoide. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35, 55-61
- 34.64 Singh, R., Ahmed, S., Islam, N., Goldberg, V. M., & Haqqi, T. M. (2002). Epigallocatechin-3-gallate inhibits interleukin-1 β -induced expression of nitric oxide synthase and production of nitric oxide in human chondrocytes: Suppression of nuclear factor κ B activation by degradation of the inhibitor of nuclear factor κ B. *Arthritis & Rheumatism*, 46(8), 2079-2086.
- 35.63 Castilhos, L. G., Rezer, J. F., Ruchel, J. B., Thorstenberg, M. L., Jaques, J. A. D. S., Schlemmer, J. B., ... & Leal, D. B. (2015). Effect of *Uncaria tomentosa* extract on purinergic enzyme activities in lymphocytes of rats submitted to experimental adjuvant arthritis model. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-11
36. Miller, M. J., Ahmed, S., Bobrowski, P., & Haqqi, T. M. (2006). The chondroprotective actions of a natural product are associated with the activation of IGF-1 production by

- human chondrocytes despite the presence of IL-1 β . *BMC complementary and alternative medicine*, 6(1), 1-10.
- 37.61 Tao, X., Younger, J., Fan, F. Z., Wang, B., & Lipsky, P. E. (2002). Benefit of an extract of *Tripterygium Wilfordii* Hook F in patients with rheumatoid arthritis: A double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 46(7), 1735-1743.
38. Jiménez, A. R. R., Olvera, A. R., Ruiz, V. M., & García, M. (2011). Alternativa con gel de *Papaver somniferum* (amapola) y *Cannabis sativa* (marihuana), como tratamiento de artritis reumatoide. *Revista de Enfermería Neurológica*, 10(1), 16-20.
39. Soejima, A., Tanabe, A. S., Takayama, I., Kawahara, T., Watanabe, K., Nakazawa, M., ... & Yahara, T. (2017). Phylogeny and biogeography of the genus *Stevia* (Asteraceae: Eupatorieae): an example of diversification in the Asteraceae in the new world. *Journal of plant research*, 130(6), 953-972.
- 40.53 52 Muanda, F. N., Soulimani, R., Diop, B., & Dicko, A. (2011). Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1865-1872.
- 41.51 Salvador-Reyes, R., Sotelo-Herrera, M., & Paucar-Menacho, L. (2014). Study of *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) as a natural sweetener and its use in benefit of the health. *Scientia Agropecuaria*, 5(3), 157-163.
42. Alvarez García, R. (2005). Estudio estereoquímico y conformacional de algunos metabolitos secundarios aislados de *stevia pilosa* y *stevia tomentosa*.
43. Cariño-Cortés, R., Hernández-Ceruelos, A., Torres-Valencia, J. M., González-Avila, M., Arriaga-Alba, M., & Madrigal-Bujaidar, E. (2007). Antimutagenicity of *Stevia pilosa* and *Stevia eupatoria* evaluated with the Ames test. *Toxicology in vitro*, 21(4), 691-697.
44. Ferrazzano, G. F., Cantile, T., Alcidi, B., Coda, M., Ingenito, A., Zarrelli, A., ... & Pollio, A. (2015). Is *Stevia rebaudiana* Bertoni a non cariogenic sweetener? A review. *Molecules*, 21(1), 38.
45. Pérez Pérez, I. (2006). Metabolitos secundarios aislados de las raíces y las hojas de *stevia jorullensis* HBK.
46. Clark, A. R., & Dean, J. L. (2012). Suppl 2: The p38 MAPK Pathway in Rheumatoid Arthritis: A Sideways Look. *The open rheumatology journal*, 6, 209.
47. Kim, E. K., & Choi, E. J. (2010). Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1802(4), 396-405.
48. Machado, K. N., Tasco, A. J. H., Salvador, M. J., Rodrigues, I. V., Pessoa, C., Sousa, I. J. O., ... & do Nascimento, A. M. (2017). Flavonoids, antioxidant, and antiproliferative activities of *Stevia urticifolia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53(6), 1167-1169.
49. Estevias
50. Gonzales, M., Villena, G. K., & Kitazono, A. A. (2021). Evaluation of the antioxidant activities of aqueous extracts from seven wild plants from the Andes using an in vivo yeast assay. *Results in Chemistry*, 3, 100098.

51. Martínez-Rojo, E., Cariño-Cortés, R., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., & Escobar-Cabrera, J. (2020). Stevia eupatoria and Stevia pilosa extracts inhibit the proliferation and migration of prostate cancer cells. *Medicina*, 56(2), 90.
52. Beer, M. F., Frank, F. M., Germán Elso, O., Ernesto Bivona, A., Cerny, N., Giberti, G., ... & Cazorla, S. I. (2016). Trypanocidal and leishmanicidal activities of flavonoids isolated from Stevia satureiifolia var. satureiifolia. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 2188-2195.
53. Ahmed, S., Khan, H., Fratantonio, D., Hasan, M. M., Sharifi, S., Fathi, N., ... & Rastrelli, L. (2019). Apoptosis induced by luteolin in breast cancer: Mechanistic and therapeutic perspectives. *Phytomedicine*, 59, 152883.
54. Elso, O. G., Bivona, A. E., Sanchez Alberti, A., Cerny, N., Fabian, L., Morales, C., ... & Sülsen, V. P. (2020). Trypanocidal activity of four sesquiterpene lactones isolated from Asteraceae species. *Molecules*, 25(9), 2014.
55. Stevia Serrata Conabio. 2009. Consultado el 26 de diciembre de 2019.
56. Reis Simas, D. L., Mérida-Reyes, M. S., Muñoz-Wug, M. A., Cordeiro, M. S., Giorno, T. B. S., Taracena, E. A., ... & Jorge Ribeiro da Silva, A. (2019). Chemical composition and evaluation of antinociceptive activity of the essential oil of Stevia serrata Cav. from Guatemala. *Natural product research*, 33(4), 577-579.
57. Gómez Berenguer, S. (2020). Aceites esenciales en patologías inflamatorias. Universidad de Sevilla
58. Beer, M. F., Frank, F. M., Germán Elso, O., Ernesto Bivona, A., Cerny, N., Giberti, G., ... & Cazorla, S. I. (2016). Trypanocidal and leishmanicidal activities of flavonoids isolated from Stevia satureiifolia var. satureiifolia. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 2188-2195.
59. Pruski, J.F. (ed.) (2018). Flora Mesoamericana 5(2): 1-608. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
60. Perez-Castorena, A. L., Arciniegas, A., Nieto-Camacho, A., & Villasenor, J. L. (2019). Chemical Constituents of Stevia subpubescens var. subpubescens and Evaluation of the Anti-Inflammatory Activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 55(3), 538-53
61. Myint, K. Z., Wu, K., Xia, Y., Fan, Y., Shen, J., Zhang, P., & Gu, J. (2020). Polyphenols from Stevia rebaudiana (Bertoni) leaves and their functional properties. *Journal of food science*, 85(2), 240-248.
62. Milani, P. G., Formigoni, M., Lima, Y. C., Piovan, S., Peixoto, G. M. L., Camparsi, D. M., ... & da Costa, S. C. (2017). Fortification of the whey protein isolate antioxidant and antidiabetic activity with fraction rich in phenolic compounds obtained from Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni leaves. *Journal of food science and technology*, 54(7), 2020-2029.
63. Tavarini, S., & Angelini, L. G. (2013). Stevia rebaudiana Bertoni as a source of bioactive compounds: the effect of harvest time, experimental site and crop age on steviol glycoside content and antioxidant properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(9), 2121-2129.

64. Anton, S. D., Martin, C. K., Han, H., Coulon, S., Cefalu, W. T., Geiselman, P., & Williamson, D. A. (2010). Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*, 55(1), 37-43.
65. Nuñez, E. (2011). *Stevia rebaudiana* Bertoni, un sustituto del azúcar. *Área Ciencia de las Plantas y Recursos Naturales Maestría en Producción Vegetal–Ciclo de Seminarios*, 97.
66. Gregersen, S., Jeppesen, P. B., Holst, J. J., & Hermansen, K. (2004). Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*, 53(1), 73-76.
67. Shukla, S., Mehta, A., Mehta, P., & Bajpai, V. K. (2012). Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(7-8), 807-811.
68. Latarissa, I. R., Barliana, M. I., & Lestari, K. (2020). A Comprehensive Review of *Stevia rebaudiana* Bertoni effects on Human Health and Its Mechanism. *J Adv Pharm Edu Res*, 10.
69. Bondarev, N. I., Sukhanova, M. A., Semenova, G. A., Goryaeva, O. V., Andreeva, S. E., & Nosov, A. M. (2010). Morphology and ultrastructure of trichomes of intact and in vitro plants of *Stevia rebaudiana* Bertoni with reference to biosynthesis and accumulation of steviol glycosides. *Moscow University biological sciences bulletin*, 65(1), 12-16.
70. Salehi, B., López, M. D., Martínez-López, S., Victoriano, M., Sharifi-Rad, J., Martorell, M., ... & Martins, N. (2019). *Stevia rebaudiana* Bertoni bioactive effects: From in vivo to clinical trials towards future therapeutic approaches. *Phytotherapy Research*, 33(11), 2904-2917.
71. Holvoet, P., Rull, A., García-Heredia, A., López-Sanromà, S., Geeraert, B., Joven, J., & Camps, J. (2015). *Stevia*-derived compounds attenuate the toxic effects of ectopic lipid accumulation in the liver of obese mice: a transcriptomic and metabolomic study. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 22-33.
72. Latha, S., Chaudhary, S., & Ray, R. S. (2017). Hydroalcoholic extract of *Stevia rebaudiana* bert. leaves and stevioside ameliorates lipopolysaccharide induced acute liver injury in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 1040-1050.
73. Fengyang, L., Yunhe, F., Bo, L., Zhicheng, L., Depeng, L., Dejie, L., ... & Zhengtao, Y. (2012). Stevioside suppressed inflammatory cytokine secretion by downregulation of NF- κ B and MAPK signaling pathways in LPS-stimulated RAW264. 7 cells. *Inflammation*, 35(5), 1669-1675.
74. Meng, J., Zhou, C., Hu, B., Luo, M., Yang, Y., Wang, Y., ... & Yan, W. (2018). Stevioside prevents wear particle-induced osteolysis by inhibiting osteoclastogenesis and inflammatory response via the suppression of TAK1 activation. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1053.
75. Boonkaewwan, C., & Burodom, A. (2013). Antiinflammatory and immunomodulatory activities of stevioside and steviol on colonic epithelial cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(15), 3820-3825.
76. Wang, T., Song, X., Zhang, Z., Guo, M., Jiang, H., Wang, W., ... & Zhang, N. (2014). Stevioside inhibits inflammation and apoptosis by regulating TLR2 and TLR2-related proteins in *S. aureus*-infected mouse mammary epithelial cells. *International Immunopharmacology*, 22(1), 192-199.

77. Kim, S. Y., Jo, M. J., Hwangbo, M., Back, Y. D., Jeong, T. Y., Cho, I. J., & Jee, S. Y. (2013). Anti-inflammatory Effect of Stevia Rebaudiana as a Results of NF- κ B and MAPK Inhibition. *The Journal of Korean Medicine Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology*, 26(3), 54-64.
78. Holvoet, P., Rull, A., García-Heredia, A., López-Sanromà, S., Geeraert, B., Joven, J., & Camps, J. (2015). Stevia-derived compounds attenuate the toxic effects of ectopic lipid accumulation in the liver of obese mice: a transcriptomic and metabolomic study. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 22-33.
79. Bunprajun, T., Yimlamai, T., Soodvilai, S., Muanprasat, C., & Chatsudthipong, V. (2012). Stevioside enhances satellite cell activation by inhibiting of NF- κ B signaling pathway in regenerating muscle after cardiotoxin-induced injury. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(11), 2844-2851.
80. Latha, S., Chaudhary, S., & Ray, R. S. (2017). Hydroalcoholic extract of Stevia rebaudiana bert. leaves and stevioside ameliorates lipopolysaccharide induced acute liver injury in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 1040-1050.
81. Ramos-Tovar, E., Casas-Grajales, S., Hernández-Aquino, E., Flores-Beltrán, R. E., Galindo-Gómez, S., Vera-Aguilar, E., ... & Muriel, P. (2019). Cirrhosis induced by thioacetamide is prevented by stevia. Molecular mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 52, 552-564.
82. Alavala, S., Nalban, N., Sangaraju, R., Kuncha, M., Jerald, M. K., Kilari, E. K., & Sistla, R. (2020). Anti-inflammatory effect of stevioside abates Freund's complete adjuvant (FCA)-induced adjuvant arthritis in rats. *Inflammopharmacology*, 28(6), 1579-1597.
83. Pól, J., Varaďová Ostrá, E., Karásek, P., Roth, M., Benešová, K., Kotlaříková, P., & Čáslavský, J. (2007). Comparison of two different solvents employed for pressurised fluid extraction of stevioside from Stevia rebaudiana: methanol versus water. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 388(8), 1847-1857.
84. Teo, C. C., Tan, S. N., Yong, J. W. H., Hew, C. S., & Ong, E. S. (2009). Validation of green \square solvent extraction combined with chromatographic chemical fingerprint to evaluate quality of Stevia rebaudiana Bertoni. *Journal of separation science*, 32(4), 613-622.
85. Jaitak, V., Bandna, B. S., & Kaul, Y. V. (2009). An efficient microwave \square assisted extraction process of stevioside and rebaudioside \square A from Stevia rebaudiana (Bertoni). *Phytochemical Analysis*, 20(3), 240-245.
86. Erkucuk, A., Akgun, I. H., & Yesil-Celiktas, O. (2009). Supercritical CO₂ extraction of glycosides from Stevia rebaudiana leaves: Identification and optimization. *The Journal of Supercritical Fluids*, 51(1), 29-35.
87. Liu, J., Li, J. W., & Tang, J. (2010). Ultrasonically assisted extraction of total carbohydrates from Stevia rebaudiana Bertoni and identification of extracts. *Food and bioproducts processing*, 88(2-3), 215-221.
88. Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J., & Tiwary, A. K. (2012). Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from Stevia rebaudiana leaves. *Food Chemistry*, 132(3), 1113-1120.
89. Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J., & Tiwary, A. K. (2012). Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from Stevia rebaudiana leaves. *Food Chemistry*, 132(3), 1113-1120.
- 90.

