
11. MATERIALES Y METODOS

11.1 MATERIALES

Plantas:

1. *Bursera aloexylon*. Linaloe, se utilizo el tronco.
2. *Ambypteryngium adstringens*. Cuachalalate, se utilizó la corteza.
3. *Tilia mexicana*. Tila, se utilizó la flor.
4. *Verbascum thapsus*. Gordolobo, se utilizó la flor.
5. *Rosmarinus officinalis*. Romero, se utilizó las tallos y hojas.
6. *Salvia hispanica*. Chía, se utilizaron las semillas.
7. *Aloe vera*. Sábila se ocuparon las hojas (savia).
8. *Opuntia ficus-indica*. Nopal, se utilizaron las pencas.

Animales:

1. Se utilizaron ratas winstar hembras de 120 a 150 gr de peso, provenientes del Bioterio "Claude Bernard" de la B.U.A.P.

Nota: a los animales se les dio libre acceso al alimento y al agua.

11.2 METODOLOGÍA

11.2.1 Obtención de los Extractos.

1. Extractos hexánicos. 100g de la planta seca y molida se colocó en un matraz erlenmeyer de 500 ml y se dejó macerar con suficiente cantidad de hexano para cubrir completamente la planta. Después se filtró (papel filtro No. 4) y en un rotavapor se llevó a sequedad el extracto a 47°C y a presión reducida. Se pesó el extracto seco y se colocó en un vial bien cerrado, en el refrigerador.
2. Extractos etanólicos. 100g de la planta seca y molida se colocó en un matraz erlenmeyer de 500 ml y se dejó macerar con suficiente cantidad de etanol para cubrir completamente la planta. Después se filtró (papel filtro No. 4) y en un rotavapor se llevó a sequedad el extracto a 57°C. Se pesó el extracto seco y se colocó en un vial bien cerrado, en el refrigerador.
3. Extractos clorofórmicos. 100g de la planta seca y molida se colocó en un matraz erlenmeyer de 500 ml y se dejó macerar con suficiente cantidad de cloroformo para cubrir completamente la planta. Después se filtró (papel filtro No. 4) y en un rotavapor se llevó a sequedad el extracto a 55°C. Se pesó el extracto seco y se colocó en un vial bien cerrado, en el refrigerador.

11.2.2 Prueba de edema plantar en rata inducido por carragenina.

El método de edema plantar inducido por carragenina consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina (un mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondus crispus*) a nivel de la aponeurosis plantar de rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autocoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar (natural o sintético) se puede administrar vía intraperitoneal, oral, etc.

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. Aproximadamente de una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase está mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2). La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. La extravasación de proteínas ocurre durante toda la respuesta al agente edematógeno. La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente.

Es muy importante la estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. Se prefiere la carragenina ante otros irritantes porque el edema producido está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y, además, porque la actividad anti-inflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad anti-inflamatoria en clínica (Giráldez, 2001).

Se utilizaron lotes de 6 ratas winstar (hembras) por cada extracto. Los extractos etanólico, clorofórmico y hexánico en una dosis de 15 mg, se disolvieron en etanol, cloroformo y hexano, respectivamente, además de la adición de Tween 80 y agua (0.5:0.5:9). El fármaco de referencia indometacina (10 mg/Kg.) se disolvió en etanol, Tween 80 y agua (0.5:0.5:9) y se administraron por vía oral 60 minutos antes de la inyección de carragenina.

El edema se indujo inyectando 0.1 ml de carragenina al 1 % en solución fisiológica en la almohadilla plantar de la pata trasera derecha. La inflamación se cuantificó midiendo

el volumen de las patas utilizando un pletismómetro (LE 7500) a las 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas después de la inyección de carragenina. La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de carragenina es indicativa del grado de inflamación (Giráldez, 2001).

Los resultados se determinaron como porcentaje de inflamación utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{V_t - V_o}{V_o} (100)$$

Donde:

V_t = volumen de la pata inflamada a un tiempo x.

V_o = volumen normal (antes de la aplicación de la carragenina)

11.2.3 Análisis estadístico.

El análisis de varianza de una vía (ANOVA) analiza la variación de una respuesta y asigna porciones (componentes) de esta variación a cada una de las variables de un conjunto de variables independientes. El razonamiento se basa en que las variables de respuesta se modifican por la variación de algún conjunto de variables independientes desconocidas. Si se incluyen todas las variables que afecten a la respuesta en un experimento, es posible observar una variación aleatoria en la respuesta, aun cuando se mantengan constantes todas las variables independientes consideradas. El objetivo del análisis de varianza es identificar variables independientes importantes en un estudio y determinar cómo interactúan y afectan la respuesta.

En el caso de las pruebas de Dunnett y Fisher comparan todas las variables entre ellas y se interpretan con base en los intervalos de confianza (Mendenhall, 1986; Weimer, 2000).