

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGIA**



**Efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora*
(CACTACEAE) en ratones de laboratorio.**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

Rocío Liliana Guerra Angel

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGIA

Ciudad Universitaria, 22 de Septiembre de 2017

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**Efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora*
(CACTACEAE) en ratones de laboratorio.**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

Rocío Liliana Guerra Angel

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGIA

ASESORES:

LIC. M.V.Z. ROBERTO GUILLEN PAREDES

LIC. MIGUEL ÁNGEL MORENO MENDOZA

Ciudad Universitaria, 22 de Septiembre de 2017

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**Efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora*
(CACTACEAE) en ratones de laboratorio.**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

Rocío Liliana Guerra Angel

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGIA

TRIBUNAL EVALUADOR:

Lic. M.V.Z Roberto Guillén Paredes

Lic. Miguel Ángel Moreno Mendoza

M. Sc. Ana Martha Zetino Calderón
JURADO

Lic. José Guillermo Mejía Valencia
JURADO

Ciudad Universitaria, 22 de Septiembre de 2017

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR:

Maestro Roger Armando Arias Alvarado

VICERRECTOR ACADEMICO:

Dr. Manuel de Jesús Joya Abrego

SECRETARIO GENERAL:

Maestro Cristóbal Ríos

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA

DECANO:

Lic. Mauricio Hernán Lovo Córdoba

VICEDECANO:

Lic. Carlos Antonio Quintanilla Aparicio

SECRETARIA:

Licda. Damaris Melany Herrera Turcios

DIRECTORA DE LA ESCUELA DE BIOLOGIA:

M. Sc. Ana Martha Zetino Calderón

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso, por darme el conocimiento, las fuerzas y la entereza necesaria requerida, para finalizar mí carrera universitaria con éxito.

A mis padres: Juan Antonio Guerra Fajardo y Ana Marina Angel de Guerra, por todos los esfuerzos que realizaron para poder finalizar mis estudios, por apoyarme y transmitir confianza para concluir con esta meta, estar siempre a mi lado en momentos buenos y adversos por los consejos proporcionados.

A mis hermanos: Verónica Patricia Guerra Angel, Claudia Beatriz Guerra Angel, Andrea Carolina Guerra Angel y Juan Antonio Guerra Angel, por su apoyo y estar siempre a mi lado.

A mis abuelitos: Marina de Angel y José Eusebio Angel Panameño (Q.E.P.D.) quienes siempre estuvieron presente a lo largo de mi formación académica.

A mis tíos Marta de Angel, Carlos Alberto Angel y especialmente a mi tío Hugo Ernesto Angel (Q.E.P.D.) quien siempre me llevo en sus oraciones.

A todos mis primos: Karlita, Karen, Josué, Daniel, José, Eduardo, y Ernesto a quienes les animo también a seguir adelante.

Gracias mi querida familia les amo mucho.

No temas, porque yo estoy contigo; no desmayes, porque yo soy tu Dios que te esfuerzo; siempre te ayudaré, siempre te sustentaré con la diestra de mi justicia.

Isaías 41:10

ROCIO L. GUERRA

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios todo poderoso, quien me dio las fuerzas y ánimo de continuar, a mi Familia, por estar siempre a mi lado y brindarme todo su apoyo y cariño.

A mis asesores y jurados, por todos sus aportes en camino a mejorar la presentación de este documento, especialmente a Lic. Miguel A. Moreno por brindarme la oportunidad, su conocimiento, experiencia, paciencia y tiempo, para poder realizar mi trabajo de graduación. Al Lic. Roberto Guillen Paredes por haberme acompañado a lo largo de esta investigación.

Al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia al Dr. Marvin Núñez, al Lic. Juan Pablo Sánchez y a todo su equipo de trabajo quienes fueron muy amables.

A todos mis amigos de CENSALUD al Lic. Noel Avalos, Amanda Bonilla, Daniel Laínez, Karla Yessenia Álvarez, Melany Murillo, Silvia Martínez, y especialmente al Lic. José Guillermo Mejía y Luis Javier Gómez por brindarme su amistad y haberme acompañado a lo largo de esta investigación.

También a Yolanda Martínez, Ruth del Carmen Panameño, Max Mejía, Walter Castro y su familia por brindarme palabras de aliento para que siguiera adelante y sus consejos que siempre tome para bien.

Y finalmente a todos los Licenciados de mi Escuela de Biología gracias a cada uno de ustedes por brindarnos sus conocimientos porque a lo largo de nuestra carrera han tenido paciencia y esmero en enseñarnos.

Escucha lo que te mando: Esfuérzate y sé valiente. No temas ni desmayes, que yo soy el Señor tu Dios, y estaré contigo por dondequiera que vayas.

Josué 1:9

ROCIO L. GUERRA

INDICE

| | N° de Pág. |
|--|------------|
| I. INTRODUCCION..... | 1 |
| II. OBJETIVOS..... | 3 |
| III. FUNDAMENTO TEORICO..... | 4 |
| 3.1. EL DOLOR..... | 4 |
| 3.2. CLASIFICACION DEL DOLOR..... | 4 |
| 3.2.1. SEGÚN EL PUNTO DE VISTA TERAPEUTICO..... | 4 |
| 3.2.2. SEGÚN SU FISIOPATOLOGÍA..... | 4 |
| 3.3. TRANSMISION DEL DOLOR..... | 6 |
| 3.4. ANALGESIA..... | 6 |
| 3.4.1. ANALGESICOS..... | 6 |
| 3.4.2. CLASIFICACION DE LOS ANALGESICOS..... | 7 |
| 3.4.2.1. Antiinflamatorios no esteroideos (AINE)..... | 7 |
| 3.4.2.2. Opiáceos menores..... | 7 |
| 3.4.2.3. Opiáceos mayores..... | 8 |
| 3.4.2.4. IBUPROFENO..... | 8 |
| 3.5. DESCRIPCION GENERAL DE <i>Pereskia lychnidiflora</i> (matial)..... | 11 |
| 3.5.1. Hábitat y distribución..... | 12 |
| 3.5.2. Taxonomía..... | 12 |
| 3.5.3. Clasificación sistemática..... | 12 |
| 3.5.4. Generalidades de los principios activos de <i>Pereskia lychnidiflora</i> | 12 |
| 3.6. MODELOS ANIMALES DE DOLOR..... | 15 |
| IV. METODOLOGIA..... | 17 |
| 4.1. UBICACIÓN DEL AREA DE ESTUDIO..... | 17 |
| 4.2. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DEL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Pereskia lychnidiflora</i> | 17 |
| 4.3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA..... | 18 |
| 4.4. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN..... | 18 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| 4.5. PRUEBA DEL ÁCIDO ACÉTICO | 18 |
| 4.6. PRUEBA DE FORMALINA..... | 20 |
| 4.7. ANALISIS ESTADISTICO | 22 |
| V. RESULTADOS..... | 23 |
| 5.1. OBSERVACIONES CLÍNICAS..... | 23 |
| 5.2. PRUEBA DEL ÁCIDO ACÉTICO | 23 |
| 5.3 PRUEBA DE FORMALINA | 25 |
| VI. DISCUSION | 28 |
| VII. CONCLUSIONES | 32 |
| VIII. RECOMENDACIONES..... | 33 |
| IX. BIBLIOGRAFIA..... | 34 |
| ANEXOS | |

INDICE DE TABLAS

| | N° Pág. |
|---|----------------|
| Tabla 1: Valores promedios y porcentaje de inhibición de la prueba del ácido acético en los grupos experimentales..... | 23 |
| Tabla 2: Valores promedios y porcentaje de inhibición de la prueba de formalina en los grupos experimentales..... | 25 |

INDICE DE FIGURAS

| | N° Pág. |
|--|---------|
| Figura 1: Estructura del Paracetamol..... | 7 |
| Figura 2: Estructura del Tramadol..... | 8 |
| Figura 3: Estructura de la Morfina..... | 8 |
| Figura 4: Estructura del Ibuprofeno..... | 9 |
| Figura 5: Mecanismo de acción de los AINEs..... | 10 |
| Figura 6: Hojas de <i>Pereskia lychnidiflora</i> | 11 |
| Figura 7: Estructura de un triterpenoide tetracíclico..... | 13 |
| Figura 8: Estructura de un triterpenoide pentacíclico..... | 14 |
| Figura 9: Aparato Soxhlet..... | 17 |
| Figura 10: Administración de las respectivas sustancias por medio de la vía intragástrica..... | 19 |
| Figura 11: Administración del ácido acético al 1% vía intraperitoneal para inducir estiramientos..... | 20 |
| Figura 12: Estiramientos inducidos por inyección de ácido acético..... | 20 |
| Figura 13: Administración subplantar de formalina al 1%..... | 21 |
| Figura 14: Lamida de pata por la inyección de formalina al 1%..... | 21 |

INDICE DE GRAFICOS

N° Pág.

Gráfico 1: Prueba del ácido acético. Comparación entre los grupos controles (H₂O_d e IBU) y los grupos tratados a dosis de 30, 50 y 100 mg/kg (Los datos se expresan como la Media + D.S. Se consideró que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control negativo es significativa (*) cuando $P < 0.05$. ANOVA/Tukey)..... 24

Gráfico 2: Prueba de formalina (Fase 1, indicativa del dolor neurogénico). Comparación entre los grupos controles (H₂O_d e IBU) y los grupos tratados a dosis de 30, 50 y 100 mg/kg (Los datos se expresan como la Media + D.S. Se consideró que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control negativo es significativa (*) cuando $P < 0.05$. ANOVA/Tukey)..... 26

Gráfico 3: Prueba de formalina (Fase 2, indicativa del dolor inflamatorio). Comparación entre los grupos controles (H₂O_d e IBU) y los grupos tratados a dosis de 30, 50 y 100 mg/kg (Los datos se expresan como la Media + D.S. Se consideró que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control negativo es significativa (*) cuando $P < 0.05$. ANOVA/Tukey)27

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* en ratones de laboratorio. Se utilizaron 5 grupos, de 8 animales cada uno. Los grupos se distribuyeron de la siguiente manera: A 3 grupos se les administró el extracto etanólico de *P. lychnidiflora* en dosis de 30 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg respectivamente, por vía oral. A un cuarto grupo se le administró Ibuprofeno a una concentración de 200 mg/kg de peso corporal y el otro grupo restante o control fue administrado con agua destilada.

Se emplearon dos pruebas que responden a un estímulo químico, estos son: Prueba de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético y la prueba de formalina. Se encontró que el extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* en la dosis de 100 mg/kg para ambas pruebas presentó actividad analgésica.

I. INTRODUCCION

Actualmente el dolor es un problema científico, social y económico de primera magnitud. El 80% de las consultas médicas están motivadas por el dolor, convirtiéndose en el síntoma principal de la consulta. El sufrimiento que acarrea el dolor, en especial el crónico, hace que millones de personas se encuentren en una situación de desesperación física y psíquica que eleva los costes humanos de dolor a límites inimaginables (Muriel, 2000).

La prevalencia del dolor crónico, por ejemplo, en poblaciones del norte del continente americano es del 35% (105 millones de habitantes), siendo principalmente problemas de origen osteoarticular, lumbalgias, migraña y cáncer. Una encuesta europea señala que el dolor crónico de intensidad moderada – severa afecta al 19% de la población adulta en Europa y que deteriora seriamente la calidad de vida, el desempeño social y laboral de los afectados. Si bien se detectaron diferencias entre países, en general la encuesta manifestó que el dolor crónico es el mayor problema de salud, en la mitad de los pacientes existe una falta de atención porque no hay personas capacitadas para controlar dicho problema (González, 2011).

El dolor puede tener un impacto devastador en todos los aspectos vitales de la persona que lo sufre: socialmente, porque se tienen que disminuir las relaciones sociales con amigos y allegados; laboralmente puede llegar a afectar a la capacidad de trabajar, produciendo un sentimiento de inutilidad y problemas económicos; en las relaciones de familia y de pareja, porque no se pueden cumplir las expectativas de los seres queridos (García, 2010).

En El Salvador, ha despertado un gran interés por conocer los métodos naturales de curación, ante el problema del creciente aumento de los precios de los medicamentos, además de sus efectos adversos experimentados por muchas personas con tratamiento de medicina de patente, ya que el 28.6% de los casos tratados están en los hospitales por efectos colaterales (Villalta, 2014).

Los efectos adversos gastrointestinales de estos fármacos son posiblemente los más comunes, seguido de las reacciones adversas renales (insuficiencia renal), las cutáneas (fenómenos de hipersensibilidad, urticaria o eritema multiforme), neurológicas (cefaleas, tinnitus), hepáticas (elevación de enzimas hepáticas) y las cardiovasculares (Muriel, 2000).

En los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de las drogas de origen vegetal, aportando resultados científicos confiables para la continuidad del uso folklórico, de modo que, permita un mejor tratamiento terapéutico. Sin embargo, en El Salvador la actividad farmacológica de muchas plantas no ha sido validada sobre las bases científicas que sustenten seguridad, efectividad y calidad requeridas para el tratamiento de enfermedades humanas.

En este sentido, algunas especies del género *Pereskia* han sido utilizadas en diversas partes del mundo por sus propiedades medicinales como antisifilítico, emoliente y para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y de la piel (Duarte y Hayashi, 2005; Farago *et al.*, 2004). Además, se han utilizado para tratar las enfermedades relacionadas con el cáncer, dolor de cabeza, dolor de estómago, úlceras gástricas, hemorroides, dermatitis, diabetes, hipertensión, reumatismo, inflamaciones, y como un tónico para revitalizar el cuerpo (Sim *et al.*, 2010), trastornos gastrointestinales (Murilo *et al.*, 2010), afecciones en la piel, dolor de oído y dolor muscular (Quiroga *et al.*, 2012; Hajdu y Hohmann, 2012).

Sin embargo, *Pereskia lychnidiflora* “matial” tiene escasa importancia económica, en El Salvador se utiliza para la construcción de corrales para el ganado o como cercos alrededor de viviendas (Leuenberger, 1986; Taylor *et al.*, 1997, PC16 Inf. 6, 2006).

En consideración de lo anterior el presente trabajo evaluó el efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* en modelos animales de dolor, inducido por estímulos químicos. Se utilizaron diferentes dosis de la sustancia de estudio y su efecto fue comparado con un fármaco de referencia.

II. OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el efecto analgésico de un extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* en ratones de laboratorio.

Objetivos específicos:

- Obtener el extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* por medio del método Soxhlet.
- Realizar ensayos preliminares para ajustar las dosis de trabajo del fármaco de referencia.
- Comparar las diferentes dosis del extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora*
- Evaluar el efecto analgésico del extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* en los modelos animales de dolor ajustados previamente.

III. FUNDAMENTO TEORICO

3.1. EL DOLOR

El dolor es una percepción consecuente a la activación del sistema nociceptivo que es uno de los responsables de la homeostasis del organismo. Su función en la protección del organismo se pone de manifiesto en que desencadena reacciones e induce comportamientos de evitación aprendidos que conllevan a una disminución de la actuación del agente causal y de los posibles daños (Ortega *et al.*, 2002).

3.2. CLASIFICACION DEL DOLOR

3.2.1. SEGÚN EL PUNTO DE VISTA TERAPEUTICO

El dolor puede clasificarse como agudo o crónico.

3.2.1.1. DOLOR AGUDO

Es producido por un daño tisular importante y su duración depende del lapso estimado como suficiente para que los tejidos sanen. Constituye un mecanismo fisiológico de alarma para limitar el daño e iniciar los procesos de reparación. Su curso temporal es propio de la lesión que lo originó. Este es el dolor observado después de un trauma, intervenciones quirúrgicas y en algunas enfermedades (Paeile y Saavedra, 1997).

3.2.1.2. DOLOR CRONICO

No posee una función protectora, y más que un síntoma se considera como una enfermedad. Es un dolor persistente que puede autoperpetuarse por un tiempo prolongado después de una lesión, e incluso, en ausencia de ella. Suele ser refractario a los tratamientos y se asocia a importantes síntomas psicológicos (Catalá, 2008).

3.2.2. SEGÚN SU FISIOPATOLOGÍA

Encontramos dos tipos de dolor diferentes, el dolor nociceptivo y el dolor neuropático.

3.2.2.1. DOLOR NOCICEPTIVO

Está causado por la activación de los nociceptores A delta y C en respuesta a un estímulo nocivo sobre los tejidos corporales, que puede ser secundario a una lesión, enfermedad, inflamación, infección o cirugía. En el dolor nociceptivo el funcionamiento del sistema nervioso es correcto. Es una respuesta fisiológica a una agresión. Una característica importante de este tipo de dolor es que en general, existe una importante correlación directamente proporcional entre la percepción del dolor y la intensidad del estímulo desencadenante. A su vez el dolor nociceptivo se subdivide en dolor somático y visceral (Idáñez, 2012).

3.2.2.1.1. Dolor somático

Este se debe a lesiones en los tejidos corporales tales como piel, músculos, cápsulas articulares, y huesos. Se caracteriza por ser bien localizado, pero variable en la descripción y la experiencia (Idáñez, 2012).

3.2.2.1.2. Dolor visceral

Este se origina por una lesión o disfunción de un órgano interno o sus serosas y suele estar mediado por los receptores de estiramiento, isquemia e inflamación.

Hay que tener en cuenta que no todas las vísceras son sensibles al dolor (cerebro, hígado, pulmón, ovarios) El dolor visceral se caracteriza por ser, cólico cuando la víscera es hueca, profundo, sordo, difuso, mal localizado que en ocasiones se irradia o se refiere en un área distante al órgano afectado. Suele acompañarse de sintomatología vegetativa, como náuseas, vómitos, sudoración, aumentos de la presión arterial y frecuencia cardíaca. Ejemplos de este tipo de dolor sería el asociado con apendicitis, colecistitis, o patología pleural (Idáñez, 2012).

3.2.2.2. DOLOR NEUROPATICO

Es aquel que afecta el sistema nervioso central, especialmente la vía sensitiva produciendo un dolor que varía de intensidad, puede ser desde leve hasta severo y suele ser continuo (Rang, 2004; Wilson, 1995).

El dolor nociceptivo y el dolor neuropático representan los dos extremos de una sucesión de eventos que se integran a nivel del sistema nervioso. En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre dolor y lesión. Ante estímulos dolorosos muy intensos, prolongados o repetitivos, puede perderse este equilibrio, dando variaciones en la intensidad y duración de las respuestas nociceptivas. Estos cambios suelen ser temporales; pero si en algunos casos se hacen persistentes, alteran la integración de la información dolorosa, perdiéndose toda relación equilibrada entre lesión y dolor (Catalá, 2008).

3.3. TRANSMISION DEL DOLOR

El dolor es originado por un estímulo de receptores presentes en la piel o tejidos profundos. Existen dos tipos de nociceptores, fibras A delta y C que pueden responder a estímulos térmicos, químicos o mecánicos. Cuando existe una lesión en un tejido, se produce una liberación de varias sustancias químicas como histaminas, prostaglandinas y bradiquidinas produciendo señales que no sólo estimulan el receptor de dolor, sino que también lo hacen hipersensible para futuros estímulos.

En el dolor el receptor primario se comunica con la médula espinal a través de terminaciones nerviosas, produciéndose sinapsis con otras neuronas antes que el estímulo doloroso ascienda hacia el tálamo y cerebro (Catalá, 2008).

3.4. ANALGESIA

La palabra analgesia etimológicamente proviene de griego *a-carencia*: negación y *algos*: dolor.

Por lo que se la define como la falta o supresión de toda sensación dolorosa, sin pérdida de los restantes modos de la sensibilidad. Es decir, una condición en la cual se perciben los estímulos nociceptivos, pero no se interpretan como dolor, generalmente va acompañada de sedación sin pérdida de la conciencia (Yeager, 1987).

3.4.1. ANALGESICOS

Un analgésico es un medicamento para calmar o eliminar el dolor, ya sea de cabeza, muscular, de artritis, etc. Existen diferentes tipos de analgésicos y cada uno tiene sus ventajas y riesgos.

Aunque se puede usar el término para cualquier sustancia, es decir, cualquier medio que reduzca el dolor, generalmente se refiere a un conjunto de fármacos, de familias químicas diferentes que calman o eliminan el dolor por diferentes mecanismos (Farmanuario, 2014).

3.4.2. CLASIFICACION DE LOS ANALGESICOS

3.4.2.1. Antiinflamatorios no esteroideos (AINE)

Son un grupo de fármacos heterogéneo, cuyo representante más conocido es la Aspirina junto con el Paracetamol (ver Figura 1). Corresponden al primer escalón analgésico de la Organización Mundial de la Salud (OMS). No producen depresión respiratoria y no inducen tolerancia ni dependencia física. Su eficacia analgésica es limitada (efecto techo) y los efectos no son dependiente de la dosis (el incremento de la dosis puede prolongar el efecto, pero no produce más analgesia y aumenta la incidencia de efectos secundarios). Son efectivos para el tratamiento del dolor leve - moderado, y en algunos casos pueden controlar el dolor intenso de componente inflamatorio (postraumático, artrítico, y secundario a metástasis óseas sin implicación visceral), postquirúrgico y de tipo cólico (Valdivielso, 1998).

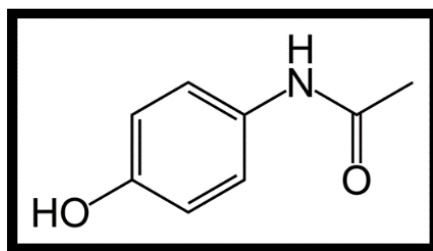


Figura 1. Estructura del Paracetamol (Lorenzo *et al.*, 2009)

3.4.2.2. Opiáceos menores

Son un grupo de sustancias, la mayoría sintéticas como el Tramadol (ver Figura 2) que imitan, con menor poder analgésico, la acción de los opioides. Corresponden al segundo escalón analgésico de la OMS.

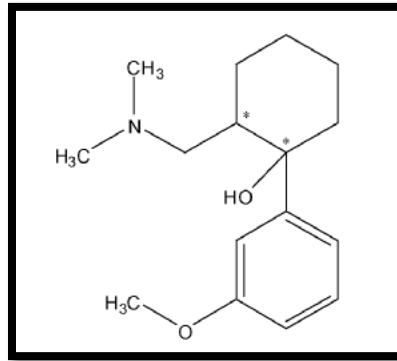


Figura 2. Estructura del Tramadol (Lorenzo *et al.*, 2009)

3.4.2.3. Opiáceos mayores

Son un grupo de fármacos, unos naturales (opiáceo) como la Morfina (ver Figura 3) y otros artificiales (opioides) como el Fentanilo, que actúan sobre los receptores opioides de las neuronas del sistema nervioso, imitando el poder analgésico de los opiáceos endógenos denominados también endorfinas. Son los fármacos analgésicos más potentes conocidos y corresponden al tercer escalón analgésico de la OMS.

Generalmente son considerados de elección para el tratamiento del dolor agudo muy importante y del dolor crónico de origen tumoral. A diferencia de los opiáceos menores no presentan “techo” analgésico, por lo que la dosis máxima sólo está limitada por los efectos adversos (Lorenzo *et al.*, 2009).

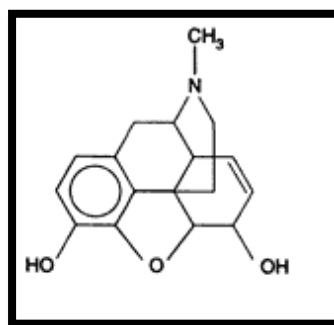


Figura 3. Estructura de la Morfina (Lorenzo *et al.*, 2009)

3.4.2.4. IBUPROFENO

El Ibuprofeno (ver Figura 4) es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE), utilizado frecuentemente como antipirético y para el alivio sintomático del dolor

de cabeza (cefalea), dolor dental (odontalgia), dolor muscular o mialgia, molestias de la menstruación (dismenorrea), dolor neurológico de carácter leve y dolor postquirúrgico. También se usa para tratar cuadros inflamatorios, como los que se presentan en artritis, artritis reumatoide (AR) y artritis gotosa. Es usado en ocasiones para tratar acné debido a sus propiedades antiinflamatorias (Wong *et al.*, 1984). Por vía oral el efecto analgésico comienza a los 30 minutos con un pico máximo a la 1-2 horas y una duración de 6 - 8 horas (Valdivielso, 1998).

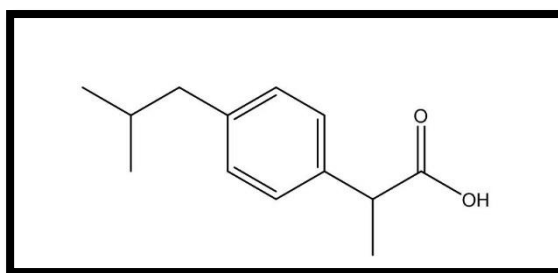


Figura 4. Estructura del Ibuprofeno (Lorenzo *et al.*, 2009)

3.5. MECANISMO DE ACCION DE LOS AINEs

El mecanismo de acción de los AINEs (ver Figura 5) consiste principalmente en la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs) de manera que impiden la síntesis de eicosanoides a partir del ácido araquidónico, el cual se encuentra esterificado a los fosfolípidos de membrana. Frente a la injuria o lesión de los tejidos existe destrucción celular y ruptura de membranas liberándose fosfolípidos y lisosomas. La liberación de lisosomas conlleva a la aparición de múltiples mediadores como histamina y bradiquinina. A su vez, cuando se produce la agresión de los tejidos por diferentes agentes, se activa la enzima fosfolipasa A₂ (FLA₂); esta enzima hidroliza el enlace éster de los fosfolípidos de membrana con la liberación de ácido araquidónico. El ácido araquidónico puede seguir dos vías; la vía de la ciclooxigenasa o la vía de la lipooxigenasa (LOX) (Viacava, 2005).

Por acción de las ciclooxigenasas se generan prostaglandinas y tromboxanos que sin ser los únicos, constituyen importantes mediadores de la inflamación. Además, por la vía de lipooxigenasa se producen leucotrienos, sustancias hipersensibilizantes y vasoconstrictoras con efecto quimiotáctico

sobre eosinófilos, neutrófilos y macrófagos. Estos favorecen broncoconstricción y trastornos de permeabilidad capilar. Cabe recalcar de los antiinflamatorios no esteroidales inhiben la enzima ciclooxigenasa y la producción de prostaglandinas, pero no suprimen la formación de leucotrienos (Viacava, 2005).

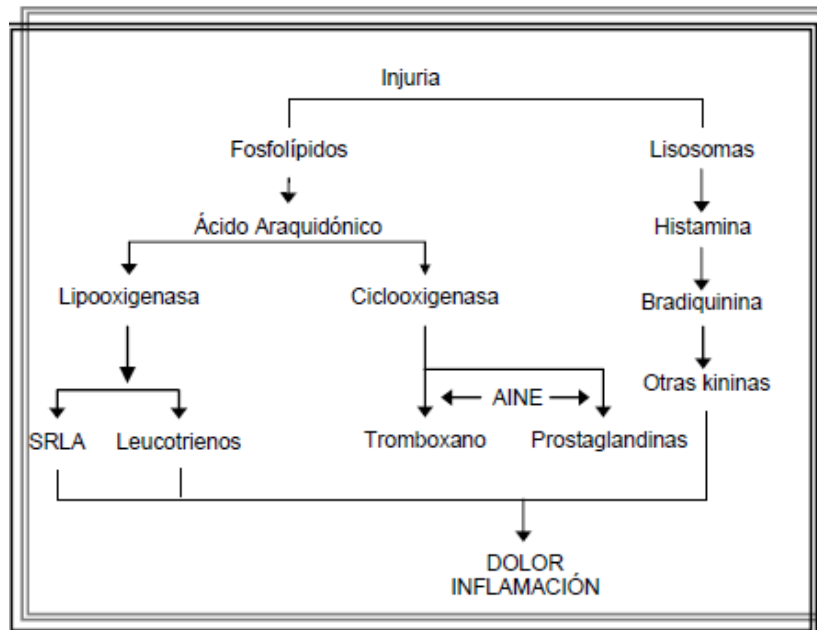


Figura 5. Mecanismo de acción de los AINEs

Existen dos isoformas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1 y COX-2. La primera se expresa en la mayoría de los tejidos en forma fisiológica o constitutiva (mucosa gástrica, plaquetas y riñones) y es responsable de la síntesis de prostaglandinas (PG) con función protectora de la mucosa gástrica (citoprotectoras), que regulan la función renal y la actividad plaquetaria. La COX-2 (principal isoenzima asociada a la inflamación) se expresa en forma constitutiva en el sistema nervioso central, riñón y aparato reproductor. La COX-2 se induce por estímulos inflamatorios, producidos por macrófagos, monocitos y células endoteliales, donde se generan prostaglandinas que median el dolor y la inflamación. Estas PG probablemente juegan un papel en el riñón, cerebro, fisiología de la reproducción, desarrollo del embrión y reparación de los tejidos (Viacava, 2005).

Los AINEs ejercen su actividad antiinflamatoria principalmente a través de la inhibición de las COX- en el sitio de la inflamación. Se postula que la inhibición de la COX-1 sería la responsable de los efectos adversos de los AINEs clásicos

sobre la mucosa gastrointestinal, mientras que sus beneficios terapéuticos dependerían de la inhibición de la COX-2 (Viacava, 2005).

La principal ventaja de los fármacos que actúan selectivamente inhibiendo COX-2 es que, consiguiendo la misma eficacia antiinflamatoria, se reducen los efectos secundarios derivados de bloquear la COX-1. No obstante la COX-2 juega un papel importante en diversos órganos, por lo que su inhibición podría producir efectos secundarios como alteraciones de la función renal y del metabolismo electrolítico (Viacava, 2005).

3.5 DESCRIPCION GENERAL DE *Pereskia lychnidiflora* (matial)

Son arbustos o árboles de hasta 15 m de altura; tallos jóvenes con ramificación monopódica, al madurar con ramificación subverticilada, horizontal a difusa; tronco 30-40 cm de ancho (Cerén *et al.*, 2015).



Figura. 6 Hojas de *Pereskia lychnidiflora*

Hojas 1-2 por aréola, algo carnosas, sésiles (ver Figura 6); nervadura pseudopalmeada con la vena central bien definida, verdes; aréolas 3-5 mm, con pelos moreno-grisáceos claros, con tricomas en plantas jóvenes; espinas 1-3, más numerosas en las aréolas del tronco. Flor terminal o lateral de color anaranjado, diurna; pedicelo 0.5-1 cm, con 1 o varias hojas; receptáculo 1-1.5 x 2 cm, las brácteas 10-20, sésiles, las aréolas con tricomas y a veces 1 espina corta; tépalos externos cerca de 3 x 3 mm, erectos, ampliamente obovados o deltoides, los más internos cerca de 6 x 6 mm, verdes a verde-rojizos; tépalos internos 10-20, cerca de 2 x 0.8-1.5 cm, obovados, amarillos, anaranjados antes de la antesis, después anaranjados a rojos, el ápice emarginado a hendido, el margen laciniado a eroso. Fruto de 2.5-4 cm de ancho, globoso, amarillo con tinte rojizo, oloroso, las brácteas deciduas. Semillas negras (Cerén *et al.*, 2015).

3.5.1. Hábitat y distribución

Especie común en Bosque Seco Tropical, Bosque Húmedo Subtropical y en transición a Subhúmedo (Holdridge, 1978). En El Salvador se reporta creciendo desde 0 hasta 772 m de altitud. La floración se observa entre los meses de mayo a septiembre y la fructificación entre los meses de agosto a febrero. Reportada desde el sur de México a Costa Rica (Cerén *et al.*, 2015).

3.5.2. Taxonomía

Pereskia lychnidiflora fue descrita por Augustin Pyrame de Candolle y publicado en *Mémoires du Muséum d'Histoire Naturelle* 17: 75–76, t. 18. 1828.

Pereskia: nombre genérico llamado así en honor a Nicolas-Claude Fabri de Peiresc, botánico francés del siglo XVI, por quien también se nombró a la subfamilia Pereskioideae.

lychnidiflora: epíteto de la palabra griega: *lychnos*, λυχνος = "luminoso" y el sufijo latino *florus* = "flor", en alusión a sus flores luminosas.

3.5.3. Clasificación sistemática

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: CARYOPHYLLALES

FAMILIA: CACTACEAE

GENERO: *Pereskia*

ESPECIE: *lychnidiflora*

3.5.4. Generalidades de los principios activos de *Pereskia lychnidiflora*

Los principios activos suelen ser metabolitos secundarios. A los metabolitos secundarios se les considera como no esenciales para la vida, aunque son fundamentales para operar una determinada función biológica (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

Los grupos de los metabolitos secundarios son: glicósidos saponínicos, glicósidos flavonoides, glicósidos cardiotónicos, sesquiterpenlactonas, taninos, carbohidratos, etc. A continuación se presentan tres principios activos encontrados en el análisis fitoquímico de *Pereskia lychnidiflora* (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

3.5.4.1. Glicósidos Saponínicos

Las saponinas son glicósidos con genina esteroidal o triterpénico que se caracterizan por disminuir la tensión superficial, por lo tanto al sacudir sus soluciones forman una abundante espuma, y relativamente estable. A la parte no azucarada o genina se le denomina sapogenina (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

Según la estructura de la genina se conocen dos grupos de saponinas; los tipo esteroide, generalmente triterpenoide tetracíclico (ver Figura 7) y triterpenoide pentacíclico (ver Figura 8). Ambos presentan un enlace heterosídico en el C-3 y tienen un origen biogenético común, por vía del ácido mevalónico y están formadas por unidades de isopreno.

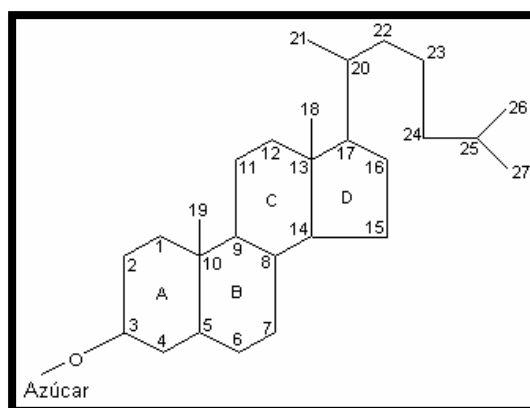


Figura 7. Estructura de un triterpenoide tetracíclico (Abrego y Sorto, 2007)

Para las saponinas también se han reportado estudios sobre la elucidación de sus mecanismos de acción analgésica y antiinflamatoria. Un ejemplo es el caso de *Glycine max* para cuyas saponinas (soyasaponinas) se ha propuesto que pueden tener un actividad quimiopreventiva a través de la baja regulación de la COX-2 (Meneses, 2015).

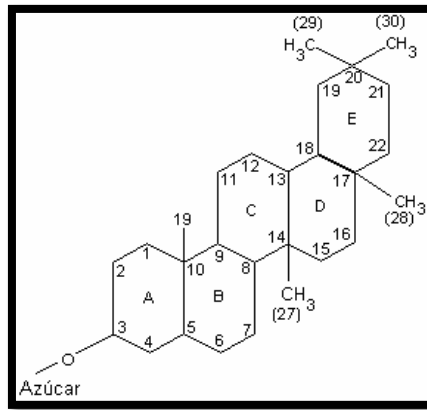


Figura 8. Estructura de un triterpenoide pentacíclico (Abrego y Sorto, 2007)

3.5.4.2. Taninos

Los taninos son compuestos químicos no cristalizables que forman soluciones coloidales de reacción ácida y sabor muy acre. Se presentan como polifenoles en mezclas, las cuales son difíciles de separar porque no cristalizan (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

Son un grupo de sustancias muy complejas que están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, casi en todas las familias vegetales existen especies que los contienen cuando se presentan en cantidades considerables, los taninos suelen localizarse en determinadas partes de las plantas, como hojas, fruto, corteza o tallo (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

Los taninos precipitan las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolítico. Aplicada a los tejidos vivos, esta acción se conoce como acción astringente y constituye la base para la acción terapéutica de los taninos. Se emplea en medicina como astringente del tracto gastrointestinal y de las escoriaciones de la piel (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

3.5.4.3. Carbohidratos

Los carbohidratos son un grupo de compuestos que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno. Son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza. Las plantas verdes y las bacterias fotosintetizadoras los producen en el proceso conocido como fotosíntesis, durante el cual adsorben el dióxido de carbono del aire y por acción de la energía solar, producen glucosa y otros

compuestos químicos necesarios para que el organismo sobreviva y crezcan (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

Estos pueden ser monosacáridos, disacáridos, trisacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los carbohidratos que dan positivas las pruebas de Fehling y Benedict se conocen como azúcares reductores y todos los carbohidratos que contienen un grupo hemiacetal o hemicetal dan positivas esta pruebas (Domínguez, 1963; Abrego y Sorto, 2007).

3.6. MODELOS ANIMALES DE DOLOR

La utilización de los modelos de dolor se justifica para el ensayo de nuevos tratamientos farmacológicos para el alivio de este. Bajo el título de modelos de dolor agudo encuadramos fundamentalmente a los modelos que utilizan un estímulo físico o químico, que tienen como objetivo determinar una latencia de respuesta por parte del animal ante dicho estímulo y tienen un desarrollo temporal breve. Entre estos tenemos, la prueba del plato o placa caliente, la de cola retirada y la de inmersión de la cola en agua caliente que usan un estímulo térmico; la prueba de presión de la pata o de la cola en la rata que usan un estímulo mecánico; el test de estimulación eléctrica de la cola que usa un estímulo eléctrico; la prueba del ácido acético y la prueba de la formalina (valoración primera fase) que usan un estímulo químico. Es una forma de conocer el umbral nociceptivo del animal, de manera que los parámetros determinados responden al esquema clásico del dolor, como reflejo dentro de un marco fisiológico (Ortega *et al.*, 2002).

Las fibras A delta son las que conducen los impulsos nociceptivos. Son fibras de pequeño diámetro y mielinizadas que conducen impulsos nerviosos relativamente rápidos variando de 5 a 50 metros por segundo. Algunas de ellas responden a la estimulación química o térmica en forma proporcional con el grado de lesión tisular; otras, sin embargo, se activan principalmente por estimulación mecánica, como presión, lo que evidencia que se localizan en el lugar de la lesión (Julius y Basbaum, 2008).

Y las fibras C son fibras nerviosas de conducción lenta, inferior a la rapidez de conducción de las fibras A delta. Son estructuras no mielinizadas o amielínicas, que responden a estímulos térmicos, mecánicos y químicos. Se

calcula que existen alrededor de 200 fibras tipo C por centímetro cuadrado de piel (Julius y Basbaum, 2008).

La estimulación mecánica puede producir diferentes respuestas en función de la intensidad y duración de la estimulación. Además, con la utilización de estímulos mecánicos nocivos se pueden producir lesiones que van a cambiar las circunstancias en que se realiza la valoración del umbral nociceptivo. Dependiendo de la intensidad, los estímulos eléctricos también pueden desencadenar un amplio repertorio de respuestas que van desde reflejos espinales, pasando por vocalizaciones y llegando a complejas respuestas como escape o agresión (Le Bars *et al.*, 2001).

La estimulación química también puede variar en intensidad, pero va a producir una estimulación lenta, que va a tener una característica especial, que el animal no va a poder evitar dicho estímulo, como sucede en los modelos de estimulación mecánica y estimulación eléctrica. Este hecho hace que estos animales tengan que ser sacrificados inmediatamente tras la realización de la prueba, con lo cual se necesitará un mayor número de animales, al no poder repetir las determinaciones en los mismos animales, como sucede en los que usan los otros tipos de estímulos (Ortega *et al.*, 2002).

Es necesario que este tipo de investigaciones se realicen bajo las orientaciones de unas guías éticas para la experimentación con animales conscientes. Los modelos de dolor agudo y crónico, son útiles para el estudio y desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos, sin embargo hay circunstancias que pueden dificultar la interpretación de los resultados obtenidos (Ortega *et al.*, 2002).

IV. METODOLOGIA

4.1. UBICACIÓN DEL AREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la Universidad de El Salvador, sus coordenadas 13°43´6" N 89°12´11" O, en las instalaciones del Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia.

4.2. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Pereskia lychnidiflora*

El extracto etanólico de las hojas de *Pereskia lychnidiflora*, fue elaborado en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia. Quienes obtuvieron el extracto de acuerdo a la siguiente metodología:

Las hojas se secaron en una estufa a temperatura de 60 °C por un espacio de 6 horas y se molieron en un molino de cuchillas, posteriormente secas y cortadas fueron extraídas en alcohol etílico a 95°, en un aparato soxhlet (ver Figura 9) hasta agotamiento de la muestra. Luego de la recuperación del solvente por medio de un rota evaporador, se obtuvo el extracto etanólico crudo, que fue utilizado como sustancia de ensayo en la presente investigación.



Figura 9. Aparato Soxhlet

4.3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Los ensayos se realizaron conforme lo establecido en las guías del Consejo Canadiense del Cuido de Animales (CCAC, por sus siglas en inglés), para el cuidado y uso de los animales de experimentación (CCAC, 1998) respetando los principios éticos de las “Tres R” (Russel y Burch, 1992).

4.4. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron ratones hembras “*Mus musculus*” de la cepa NIH (National Institute of Health), procedentes del Laboratorio de Experimentación Animal del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador. Se procedió a la obtención de animales experimentales por medio de cruces poligámicos. Obtenidos los animales se establecieron los cinco grupos experimentales.

Las hembras utilizadas se encontraban en estado juvenil nulíparas y no grávidas, cuyo peso oscilo entre 20 y 23 g. Todos los animales se mantuvieron a una temperatura y humedad relativa controlada de 22 ± 2 °C y entre 50-60% respectivamente, con un ciclo luz - oscuridad de 12/12 horas, marcados con ácido pícrico para su identificación individual. Los animales fueron examinados clínicamente antes de cada ensayo, para certificar su estado de salud. La alimentación consistió en dieta a base de concentrado peletizado para roedores y agua destilada en forma libre.

4.5. PRUEBA DEL ÁCIDO ACÉTICO

El fundamento de este consiste en la inducción de estiramientos en los ratones mediante la inyección de ácido acético al 1%, vía intraperitoneal (Koster *et al.*, 1959).

Se utilizaron 5 grupos, de 8 animales cada uno. Los grupos se distribuyeron de la siguiente manera: A tres grupos se les administró 0.2 ml (Santoro, 2013) del extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* en dosis de 30 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg respectivamente, a todos por vía oral (ver Figura 10). A un cuarto grupo se le administró 0.2 ml de Ibuprofeno a dosis de 200 mg/kg de peso corporal y el grupo restante o control se le administró agua destilada.



Figura 10. Administración de las respectivas sustancias por medio de la vía intragástrica

Media hora después se provocaron los estiramientos inducidos por inyección vía intraperitoneal de solución de ácido acético al 1% (a una concentración de 1 ml de ácido acético en 99 ml de agua desionizada), en volumen de 0.1 ml a cada animal (ver Figura 11).

Los ratones se colocaron en contenedores transparentes individuales y el número de estiramientos realizados se registró durante 20 min para cada animal a partir del primero que realizó (ver Figura 12).

Se calculó el porcentaje de inhibición de contorsiones utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{X_c - X_p}{X_c} * 100$$

Dónde: X_p = número de estiramientos del grupo problema

X_c = número de estiramientos del grupo control



Figura 11. Administración del ácido acético al 1% vía intraperitoneal para inducir estiramientos

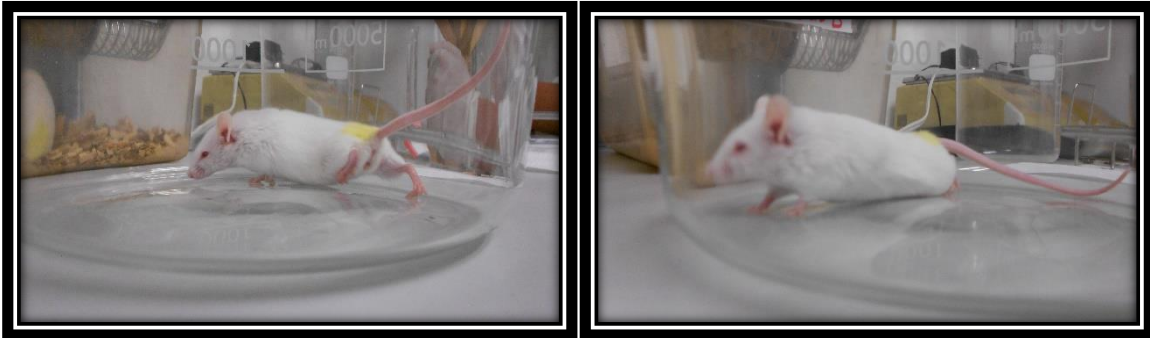


Figura 12. Estiramientos inducidos por inyección de ácido acético

4.6. PRUEBA DE FORMALINA

Esta prueba se realizó media hora después de administrar las sustancias correspondientes a cada animal y según se describió anteriormente. El estímulo doloroso se indujo por la inyección subplantar de 20 μ l de formalina al 1%, en la pata trasera derecha del ratón (ver Figura 13), luego fueron colocados en contenedores transparentes para su observación.



Figura 13. Administración subplantar de formalina al 1%

Para esta prueba se distinguieron 2 fases: Fase 1, indicativa del dolor neurogénico (primeros 5 min) y Fase 2, indicativa del dolor inflamatorio (15 a 30 min después de la administración de la formalina) (Hunskar, 1987). Para evaluar ambas fases, se midió el tiempo acumulado en segundos por medio de un cronómetro durante el cual, el animal se lame la pata (ver Figura 14).

Se determinó para ambas fases el porcentaje de inhibición en los grupos tratados respecto al grupo control, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{X_c - X_p}{X_c} * 100$$

Dónde: X_p = Tiempo de lamidas en segundos del grupo problema

X_c = Tiempo de lamidas en segundos del grupo control

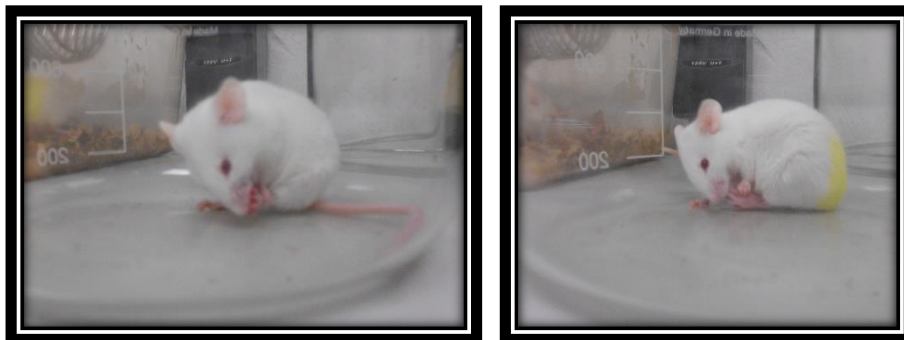


Figura 14. Lamida de pata por la inyección de formalina al 1%

4.7. ANALISIS ESTADISTICO

Todos los datos obtenidos fueron estadísticamente evaluados con los softwares SPSS 21.0. y STATGRAPHICS Centurión XVI.I, con apoyo de Microsoft Excel 2013. Y se utilizó el contraste de Shapiro y Wilks para realizar la prueba de normalidad a todos los grupos.

La prueba de hipótesis incluyó el análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) seguido de un test de Tukey. Se considera que la diferencia (P) entre los grupos tratados con la sustancia de ensayo y el grupo control es significativa cuando $P < 0.05$ indicada mediante un asterisco (*). Todos los resultados se expresan como la Media \pm Desviación Estándar de los grupos experimentales.

V. RESULTADOS

5.1. OBSERVACIONES CLÍNICAS

Al finalizar el proyecto de investigación se observaron en los diferentes grupos, cambios en su apariencia tales como: debilidad, aislamiento, pérdida de apetito, cambios en la apariencia del pelo.

5.2. PRUEBA DEL ÁCIDO ACÉTICO

Los valores obtenidos a través de la prueba del ácido acético se pueden apreciar en la Tabla 1. Las medias basales muestran que los datos se comportan con una tendencia normal. En donde el grupo tratado con agua destilada, obtuvo el mayor número de estiramientos, con una media de 45.43 estiramientos en 20 minutos. El medicamento patrón (Ibuprofeno) logro mantener los valores bajos registrando una media de 4.29 y produjo una inhibición significativa del estímulo nociceptivo del 90.55%; lo cual se vuelve un parámetro indicador de la eficacia del mismo.

Los valores del extracto etanólico de las hojas de la planta en estudio, muestran un comportamiento decreciente en cuanto a la media estadística de los estiramientos. Dichos valores bajan a medida aumenta la dosis del extracto etanólico de *P. lychnidiflora*, tendencia que se aprecia con mayor claridad en el gráfico 1.

Tabla 1. Valores promedios y porcentaje de inhibición de la prueba del ácido acético en los grupos experimentales

| Grupos | Media | ± | D.S | % INHIBICION DE LOS ESTIRAMIENTOS INDUCIDOS POR ACIDO ACETICO |
|------------------|-------|---|-------|---|
| H2Od | 45.43 | ± | 6.37 | - |
| IBU (200 mg/kg) | 4.29 | ± | 3.86 | 90.55 |
| E.e. (30 mg/kg) | 13.63 | ± | 13.95 | 70 |
| E.e. (50 mg/kg) | 10.50 | ± | 7.43 | 76.88 |
| E.e. (100 mg/kg) | 7.75 | ± | 9.21 | 82.94 |

Los valores se expresan como la Media ± D.S. (desviación estándar) $p < 0.05$. Las siglas significan: H₂O_d= Agua Destilada, IBU= Ibuprofeno; E.e.= Extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora*.

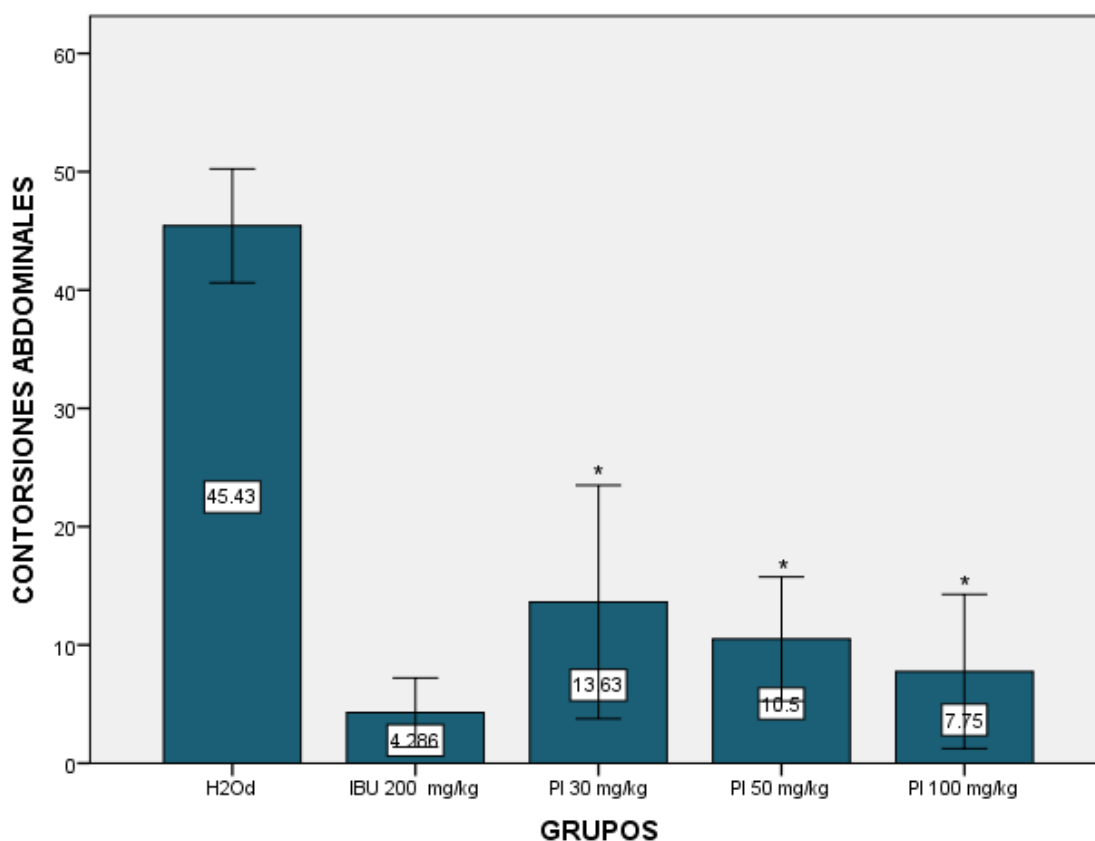


Gráfico 1. Prueba del ácido acético. Comparación entre los grupos controles (H2Od e IBU) y los grupos tratados a dosis de 30, 50 y 100 mg/kg (Los datos se expresan como la Media \pm D.S. Se consideró que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control negativo es significativa (*) cuando $P < 0.05$. ANOVA/ Tukey).

Apreciándose una notable diferencia de estos tres últimos si se compara con el grupo tratado con agua destilada, los extractos etanólicos a dosis de 30 y 50 mg/kg registraron datos considerablemente bajos (ver Gráfico 1). Por su parte la dosis de 100 mg/kg del extracto etanólico, fue el que mejor resultado obtuvo. Con una media de 7.75 estiramientos en 20 minutos, el cual fue el único que redujo los estiramientos en los animales tratados, de manera similar al grupo que fue administrado con el Ibuprofeno.

Al comparar las dosis entre sí de 30, 50 y 100 mg/kg, se puede observar que en la de 30 mg/kg se obtuvieron más estiramientos en sus resultados ya que presentó una media de 13.63 estiramientos en 20 minutos y la de 50 mg/kg fue de 10.5 estiramientos, siendo la dosis más alta (100 mg/kg) la que presenta menos estiramientos con una media de 7.75.

5.3 PRUEBA DE FORMALINA

Esta prueba evaluó los dos tipos de reacción ante el dolor; neurogénico medido durante los primeros 5 minutos y el inflamatorio evaluado entre los 15 a 30 minutos después de inducido el dolor (ver Tabla 2). En una primera fase el grupo tratado con agua destilada es el que presenta los valores más altos con una media de 15.43 segundos, mientras el Ibuprofeno arrojó los datos más bajos del ensayo confirmando con ello su grado de eficacia; la tendencia de los resultados obtenidos puede verse en el gráfico 2.

En el caso particular de los extractos etanólicos de *P. lychnidiflora* las tres dosis (30, 50 y 100 mg/kg), en el rango de 15 a 30 minutos, muestran medias de 29.57, 30.33 y 24.57 segundos respectivamente. Dichos datos se encuentran por arriba de los obtenidos por el grupo tratado con el fármaco de referencia (Ibuprofeno) que tuvo un valor de 19.29 segundos y un porcentaje de inhibición del 61.53 %.

Tabla 2. Valores promedios y porcentaje de inhibición de la prueba de formalina en los grupos experimentales

| Grupos | 0 - 5 min Media ± D.S | % INHB DE LAS LAMIDAS DE PATA | 15 - 30 min Media ± D.S | % INHB DE LAS LAMIDAS DE PATA |
|------------------|--------------------------|--|----------------------------|--|
| H2Od | 15.43 ± 4.72 | - | 50.14 ± 5.84 | - |
| IBU (200 mg/kg) | 9.29 ± 2.81 | 39.79 | 19.29 ± 11.90 | 61.53 |
| E.e. (30 mg/kg) | 10.86 ± 5.52 | 29.62 | 29.57 ± 13.04 | 41.03 |
| E.e. (50 mg/kg) | 11.83 ± 2.93 | 23.33 | 30.33 ± 7.81 | 39.51 |
| E.e. (100 mg/kg) | 12 ± 6.73 | 22.23 | 24.57 ± 14.23 | 51 |

Los valores se expresan como la Media ± D.S. (desviación estándar) $p < 0.05$. Las siglas significan: H₂O d = agua destilada, IBU= Ibuprofeno; E.e.= Extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora*.

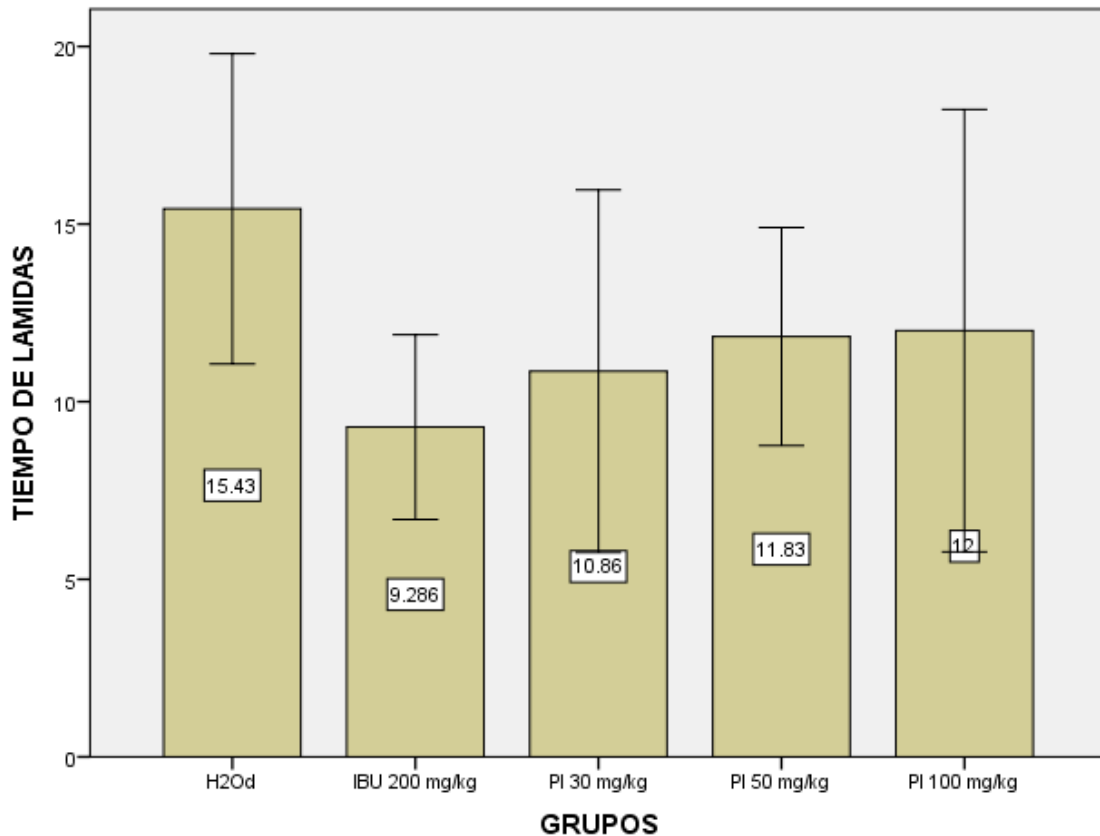


Gráfico 2. Prueba de formalina (Fase 1, indicativa del dolor neurogénico). Comparación entre los grupos controles (H₂O e IBU) y los grupos tratados a dosis de 30, 50 y 100 mg/kg (Los datos se expresan como la Media \pm D.S. Se consideró que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control negativo es significativa (*) cuando $P < 0.05$. ANOVA/ Tukey).

En la primera fase de esta prueba (primeros 5 minutos) el valor más bajo lo registra la dosis de 30 mg/kg con una media de 10.86 segundos (ver Gráfico 2) a comparación del Ibuprofeno que fue de 9.286 segundos. Y el valor más alto fue el de dosis de 100 mg/kg con una media de 12 segundos.

Realizada la comparación de las dosis tratamiento, se puede observar que en la de 30 mg/kg se obtuvo menos lamidas de pata ya que presentó una media de 10.86 segundos en los primeros 5 minutos, la de 50 mg/kg fue de 11.83 segundos, siendo la dosis más alta (100 mg/kg) la que presenta más lamidas con una media de 12 segundos.

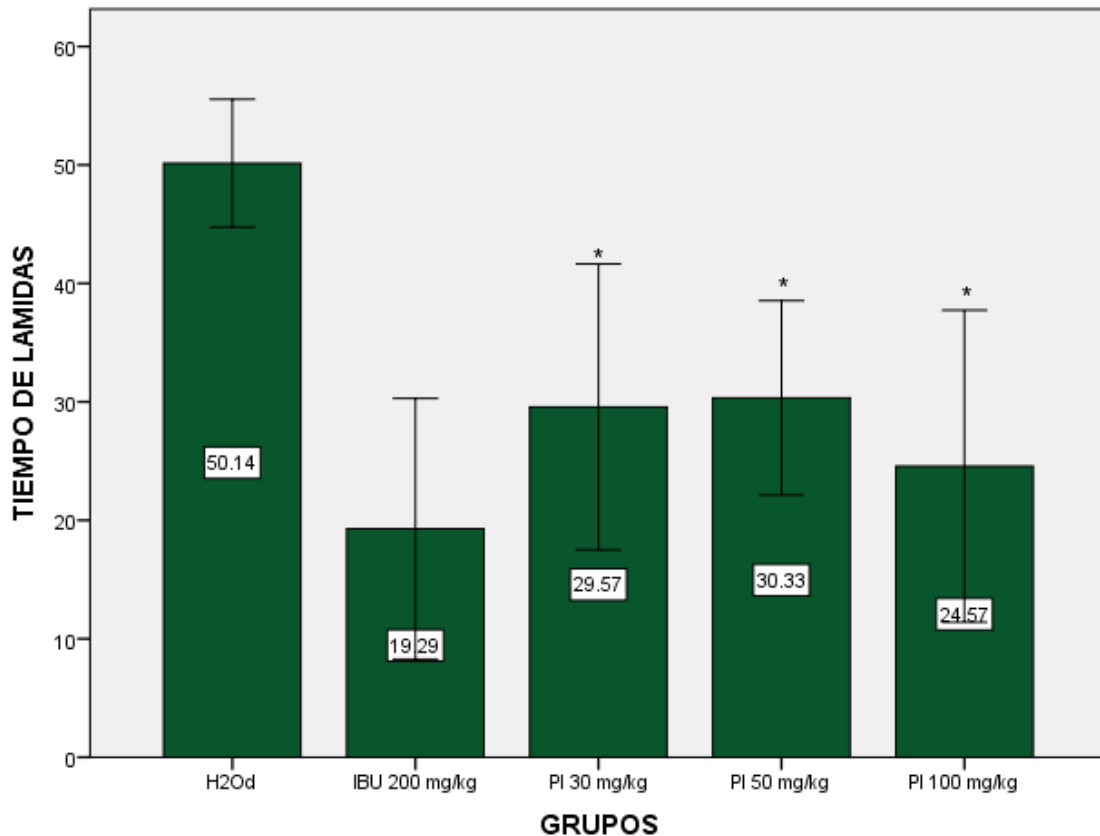


Gráfico 3. Prueba de formalina (Fase 2, indicativa del dolor inflamatorio). Comparación entre los grupos controles (H2Od e IBU) y los grupos tratados a dosis de 30, 50 y 100 mg/kg (Los datos se expresan como la Media \pm D.S. Se consideró que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control negativo es significativa (*) cuando $P < 0.05$. ANOVA/ Tukey).

En la segunda fase de esta prueba (15 a 30 minutos) los animales tratados con agua destilada, son nuevamente los que obtienen valores altos alcanzando medias de 50.14 segundos (ver Gráfico 3), el valor más bajo lo registra el grupo tratado con Ibuprofeno (200 mg/kg) tornándose como punto de referencia al momento de comparar el resto de las sustancias, luego de transcurrido el lapso de tiempo determinado. Las medias obtenidas por los extractos etanólicos de *P. lychnidiflora*, mostraron un comportamiento con intervalos que van desde los 24 a 30 segundos; cabe destacar que la dosis de 100 mg/kg del extracto etanólico de *P. lychnidiflora* fue el que mejor valor obtuvo, llegando ligeramente compararse a los datos obtenidos por el grupo administrado con el fármaco.

Del mismo modo, al realizar la comparación de los resultados entre las dosis tratamiento, se puede observar que en la de 30 mg/kg se obtuvo más lamidas de pata ya que presentó una media de 29.57 segundos, la de 50 mg/kg fue de 30.33 segundos, siendo la dosis más alta (100 mg/kg) la que presenta menos lamidas con una media de 24.57 segundos.

VI. DISCUSION

La prueba del ácido acético es ampliamente utilizada como un modelo de inducción del dolor. Galceran *et al.* (2011) mencionan que existe importantes neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas en la modulación del dolor inducido por el ácido acético; por lo tanto, los fármacos en los receptores noradrenérgicos, antidepresivos tricíclicos y los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, también responden a esta prueba.

Por otro lado, el método de formalina, que es otro modelo de inducción del dolor se realiza en dos tiempos. Monteiro *et al.* (2009) mencionan que la fase inicial que ocurre los primeros 5 minutos, está relacionado con la activación de nociceptores C y A delta fibras aferentes que son las relacionadas al dolor neurogénico, y durante una segunda fase que se produce entre 15 a 30 minutos después de la inyección, esta se asocia a la liberación de mediadores inflamatorios incluyendo prostaglandinas, histaminas, bradiquininas y la serotonina. Lo que nos indica que la prueba de formalina es un modelo químico de inducción de dolor que puede determinar el mecanismo de acción de un analgésico que ocurre central y periféricamente. La inyección subplantar de formalina provoca una respuesta bifásica de comportamiento caracterizada por el lamido de la pata. De acuerdo con lo anterior, y a lo observado en esta investigación, en el momento de inyectar formalina en la pata del ratón se lamía constantemente evidenciándose así la fase inicial del dolor neurogénico y luego a los 15 a 30 minutos ya no eran constantes.

Campos *et al.* (2015) realizaron fracciones hidrometanolicas del extracto de hojas de *Pereskia aculeata* para determinar la actividad antinociceptiva, para el que emplearon 3 pruebas: contorsiones abdominales inducidas por ácido acético, el de formalina y el de plato caliente a dosis de 100, 200 y 300 mg/kg y como fármacos de referencia utilizaron Morfina (7.5 mg/kg) e Indometacina (10 mg/kg). Teniendo así que en la prueba de ácido acético y la prueba de formalina fueron similares a los que se reportan en el presente documento para la especie en estudio.

También Guilhon *et al.* (2015) utilizaron diferentes extractos de las hojas de *Pereskia bleo*, para evaluar efecto antinociceptivo tales como; etanol, hexano, acetato de etilo y butanol en dosis de 30, 50 y 100 mg/kg p.o. y fueron administrados en ratones, de los diferentes extractos se obtuvo variaciones con respecto al fármaco de referencia, pero las dosis que administraron fueron las mismas utilizadas en esta investigación y dando resultados similares ya que la dosis de 100 mg/kg fue la que dio un mejor resultado. Mientras que Benítez *et al.* (1998), estudiaron la actividad analgésica y antipirética del extracto fluido de *Pimenta dioica* L. (825, 1 320 y 1 650 mg/kg) en animales de experimentación. Evaluando de esta manera el efecto analgésico mediante la técnica de contorsiones inducidas por agentes químicos, utilizando a su vez como sustancia de referencia Ibuprofeno 200 mg/kg, al igual que en la presente investigación donde se utilizó Ibuprofeno a 200 mg/kg y siempre siendo la dosis más alta la que da un mejor resultado.

Rivas *et al.* (2005) evaluaron el efecto analgésico por el método de estiramiento por inyección de ácido acético, y encontraron que el efecto analgésico de *Maytenus krukovii* (Celastraceae) y *Aristeguietia discolor* (Asteraceae) eran comparables al Ibuprofeno, el cual refleja similitud a los resultados obtenidos.

Khanavi *et al.* (2012), evaluaron el efecto analgésico de un extracto hidroalcohólico de las hojas de *Marrubium parviflorum* utilizando la prueba de formalina en dosis de 50, 100 y 200 mg/kg en ratones. La dosis de 200 mg/kg demostró un efecto analgésico significativo en la fase crónica del dolor inducido igual que la morfina. Teniendo parecido a esta investigación, en la parte de la planta utilizada, la metodología y en el extracto en que se realizó dicho estudio.

Los analgésicos opiodes como por ejemplo la Morfina inhiben la nocicepcion causada por la formalina en ambas fases, mientras que los antiinflamatorios son capaces de suprimir de manera más efectiva la segunda fase. Para Shibata *et al.* (2010) los analgésicos no opiodes que actúan central y periféricamente son activos en ambas fases de esta prueba; sin embargo, son más eficaces en la segunda fase, en la que generalmente dosis más bajas son suficientes para causar un efecto antinociceptivo. De acuerdo a lo anterior, y a lo

ocurrido en el presente estudio, el Ibuprofeno por ser un antiinflamatorio no esteroideo, sólo fue capaz de suprimir de manera más efectiva la segunda fase en la prueba de la formalina.

Las ciclooxigenasas (COX) son las enzimas clave en la síntesis de las prostaglandinas, a través de la oxidación del ácido araquidónico. Estas prostaglandinas son las que están involucradas en funciones relacionadas con la homeostasis de diversos órganos, así como también con el dolor, la inflamación y el desarrollo de neoplasias (Meijide *et al.*, 2000).

Por esta razón, se han desarrollado una variedad de ensayos biológicos para definir la actividad de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) contra la COX-1 y la COX-2. Con estos ensayos se ha podido determinar que los diferentes AINEs poseen un efecto inhibitor variable según menciona Meijide *et al.* (2000). El concepto de especificidad es un concepto *in vivo* que refleja la capacidad de supresión de la COX-2 especialmente (inflamación), sin inhibir clínicamente la COX-1 (ausencia de efectos gástricos y ausencia de efectos sobre la función plaquetaria). Hasta el momento, ninguno de los AINEs disponibles ha demostrado tener un efecto específico sobre la COX-2, su efecto sobre la inflamación, dolor y la ausencia de efectos secundarios relevantes parece que supondrán un paso importante en la terapéutica de las enfermedades inflamatorias. Por lo antes dicho, se puede mencionar que algunos de los compuestos químicos presentes en la planta estudiada podrían presentar mecanismos de acción muy similares a los AINEs, como la síntesis de las prostaglandinas inhibiendo así a la COX-2 (Meijide *et al.*, 2000) y esto debido a la similitud de los resultados obtenidos entre las dosis administradas del extracto y el fármaco utilizado, específicamente con la dosis de 100 mg/kg en la segunda fase de la prueba de formalina que evalúa el dolor inflamatorio, sin dejar a un lado, los resultados favorables que también se obtuvieron en la prueba del ácido acético.

Pereskia lychnidiflora posee una variedad de compuestos químicos, tales como los reportados por Abrego y Sorto (2007) entre estos: glicósidos saponínicos, taninos y carbohidratos. En las hojas de *P. aculeata*, *P. bleo* y *P. grandifolia*, se identificaron esteroides tales como el sitoesterol, según Malek *et*

al. (2009) y Sim *et al.* (2010). Los fitoesteroles poseen varios efectos biológicos en modelos animales, como: antiinflamatorios, y antifúngicos (Ling *et al.*, 1995). De igual forma, para las saponinas también se ha reportado actividad antiinflamatoria en *Passiflora ligularis* (Meneses, 2015). Es posible, a pesar que no esté reportado, pero también para *Pereskia lychnidiflora* se identifiquen esteroides relacionándose así con la actividad analgésica que se consiguió en el estudio.

VII. CONCLUSIONES

En lo concerniente a los resultados obtenidos en la presente investigación y bajo nuestras condiciones experimentales, se concluye que el extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* a una dosis de 100 mg/kg posee un efecto analgésico frente a Ibuprofeno 200 mg/kg utilizado como fármaco referencia.

El mayor efecto analgésico según el porcentaje de inhibición de los estiramientos, fue dado por el extracto etanólico de *Pereskia lychnidiflora* a dosis de 100 mg/kg, mostrando una inhibición del 82.94%, pero ninguna dosis mostró ser superior al efecto analgésico obtenido por el Ibuprofeno, que fue de 90.55% su inhibición.

El mayor porcentaje de inhibición de las lamidas de pata a los primeros 5 minutos fue dado por el extracto etanólico de *P. lychnidiflora* a dosis de 30 mg/kg, con un porcentaje de inhibición de 29.62%; en cambio a los 30 minutos el mayor porcentaje fue dado nuevamente por la dosis de 100 mg/kg y fue del 51%.

Aunque *Pereskia lychnidiflora* dio buenos resultados a dosis de 100 mg/kg en ambas pruebas aún no se puede validar para ser utilizada debido que no se han realizado estudios de toxicidad y los efectos secundarios que produce.

VIII. RECOMENDACIONES

Se recomienda seguir evaluando el efecto analgésico de *Pereskia lychnidiflora*, pero utilizando diferentes tipos de extractos como, por ejemplo; acuoso, metanólico, entre otros y a dosis que superen los 100 mg/kg.

Además, se sugiere, aumentar el número de modelos de dolor agudo y crónico utilizando pruebas que se dan por estimulación física como la prueba de plato caliente, prueba de cola retirada, prueba de estimulación eléctrica de la pulpa dental, prueba de constricción crónica del nervio ciático; entre otras.

Se sugiere aislar e identificar metabolitos secundarios para esta especie y a la vez realizar estudios de toxicidad de las sustancias de ensayo.

Se recomienda, realizar pruebas de expresión de genes y cuantificación de proteínas, para determinar a nivel molecular la actividad analgésica de esta especie vegetal y otras que se pueden realizar a futuro.

Es importante hacer más investigaciones de este tipo, ya que las plantas están a nuestra disposición y resultan más beneficiosas por los bajos costos, a la vez se da un aporte científico que brinda la validación para un tratamiento alternativo.

Debido al dolor causado en los animales al realizar este tipo de pruebas, es necesario considerar el cuidado y uso de los animales de experimentación, respetando los principios éticos de las “Tres Rs” y el bienestar animal.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Abrego, A.L. y E. Sorto. 2007. Comprobación de la actividad antifúngica del extracto de la especie *Pereskia amturnalis* (matial) en el hongo *Aspergillus niger*. Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador.
2. Benitez, A., Tillán, J. y Y. Cabrera, 1998. Actividad analgésica y antipirética de un extracto fluido de *Pimenta dioica* y evaluación de su toxicidad aguda oral. Revista Cubana de Farmacia v.32 n.3. 6 pp.
3. Catalá, E. 2008. Manual de tratamiento de dolor. Publicaciones permanyer. 2^{da} Ed. Barcelona, España. 617 pp.
4. Campos, N. do Nascimento, A.P., Ramos, N., de Freitas, R., da Silva, E.V., Quaglio, P.M., Ribeiro, A., Salvador, M.J. y E. Scio. 2015. *Pereskia aculeata*: A plant food with antinociceptive activity. Pharmaceutical Biology. 53(12): 1780–1785
5. CCAC. 1998. Guide for the care and use of laboratory animals. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Canada. www.ccac.com
6. Cerén, J.G., Menjívar, J.E. y A.S. Arias. 2015. Diversidad de cactus de El Salvador. Museo de Historia Natural de El Salvador. Volumen 3. 152 pp.
7. Domínguez, X. A. 1963. Métodos de Investigación Fitoquímica. Primera Edición. Editorial Limusa. México D.F. 149-153p.
8. Duarte M.R. y S.S Hayashi. 2005. Estudio anatómico de hojas y tallo de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). Rev. Brasileira de Farmacognosia 15(2): 103–109.
9. Farago P.V, Takeda I.J.M, Budel J.M. y M.R. Duarte. 2004. Análisis morfológica y anatómica de hojas de *Pereskia grandifolia* (Cactaceae). Lat Am J Pharm 23(3):323–327, ISSN:0326–2383.
10. Farmanuario. 2014. Informédica S.R.L.
11. Galceran, C.B., Sertie, J.A.A., Lima, C.S. y J.C.T, Carvalho. 2011. Antiinflammatory and analgesic effects of 6a,7b-dihydroxy-vouacapan 17b-oic acid isolated from *Pterodon emarginatus* Vog. Fruits Inflammopharmacology 19:139–43.

12. García, J.A. 2010. Intervención psicológica en el dolor crónico. Madrid, España. Visto en: <http://www.cop.es/colegiados/M-00451/Dolor.htm>
13. González, J.L. 2011. Trastornos de personalidad en pacientes con dolor crónico atendidos en Clínica del Dolor Instituto Salvadoreño del Seguro Social abril - noviembre 2011. Universidad de El Salvador. Tesis para optar al título de Especialista en Psiquiatría y Salud Mental.
14. Guilhon C.C, Wahab I.R.A, Boylan F. y Fernandes P.D. 2015. Evaluation of antinociceptive activity of *Pereskia bleo* Kunth. *Planta Med* 78:1098.
15. Hajdu Z., y J. Hohmann. 2012. An ethnopharmacological survey of the traditional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Paraguá Indian Reservation, Bolivia. *J Ethnopharmacology* 139:838–857.
16. Holdridge L.R. 1978. Mapa Ecológico de El Salvador, Ministerio de Agricultura y Ganadería, San Salvador.
17. Hunskar, S. y K. Hole. 1987. The formalin test in mice: Dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain, *Pain*, 30, 103.
18. Idáñez, A. 2012. Dolor agudo y crónico, clasificación del dolor. Historia clínica en las unidades del dolor. Hospital Universitario Vall d'Hebrón. Área de Traumatología. España. 22 pp.
19. Julius, D. y A. Basbaum. 2008. Molecular mechanisms of nociception. Department of Cellular and Molecular Pharmacology, and Departments of Anatomy and Physiology and W. M. Keck Foundation Center for Integrative Neuroscience. University of California San Francisco. 8 pp.
20. Khanavi, M., Nabavi, M., Sadati, N., Shams Ardekani, M., Sohrabipour, J. y S.M. Nabavi. 2012. Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines. *Biol Res.* 2010;43:31–7.
21. Koster, R., M. Anderson y E.J. De Beer. 1959. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* 18: 412-6.
22. Le Bars, D., Gozariu, M. y S. Cadden. 2001. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001; 53:597-652.
23. Leuenberger, B.E. 1986. *Pereskia* (Cactaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 41:1-141.
24. Ling W.H, Jones P.J.H. 1995. Minireview dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci* 57(3):195–206.

25. Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J.C., Moro, M.A., y A. Portolés. 2009. Farmacología básica y clínica. 18ª Edición. Editorial Médica Panamericana, S.A. Madrid, España. 1374 pp.
26. Malek, S.N.A., Wahab, N.A., Yaacob, H., Shin, S.K, Lai, H.S, Serm L.G. y S.N.S.A. Rahman. 2009. Cytotoxic activity of *Pereskia bleo* (cactaceae) against selected cell lines. International Journal Vol. 4. Pag. 20–27.
27. Meijide, G.A.J. y J.J. Carnota. 2000. Fisiopatología de la ciclooxigenasa 1 y ciclooxigenasa 2. Rev. Esp. Reumatol. 33-5.
28. Mémoires du Muséum d'Histoire Naturelle 17: 75–76, t. 18. 1828. Visto en: <http://biodiversitylibrary.org/page/26229141>.
29. Meneses Macías, C. 2015. Saponinas y Flavonoides de *Passiflora ligularis* y evaluación de su actividad antiinflamatoria. Tesis para optar al Título en Magister en Ciencias-Química. Facultad de Ciencias, Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia. 123 pp.
30. Monteiro, E.M.H, Chibli, L.A. y C.H. Yamamoto. 2009. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the sesame oil and sesamin. Nutrients 6:1931–44.
31. Muriel, C. 2000. Master dolor. Universidad de Salamanca, España. Volumen 3 y 6.
32. Murilo, E., Melendez Martinez A.J. y F. Portugal. 2010. Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. Food Chem 122:167–172.
33. Ortega, A., Roca, A. y J. A. Mico. 2002. Modelos animales de dolor: una visión crítica, Rev. Soc. Esp. Dolor. Pág. 447.
34. Paeile, C. y H. Saavedra. 1997. “El dolor, aspectos básicos y clínicos”. Editorial Mediterráneo, Santiago, Chile. 69 pp.
35. PC16 Inf. 6. 2006. Evaluación del estatus del género *Pereskiaopsis* y de *Pereskia lychnidiflora* (Cactaceae) en México dentro de los Apéndices de la CITES. Autoridad Científica CITES de México.
36. Quiroga, R. Meneses, L. y L.W. Bussmann. 2012. Medical ethnobotany in Huacareta (Chuquisaca, Bolivia). J Ethnobiol Ethnomed 8(29):2–14. doi:10.1186/1746-4269-8-29.
37. Rang, H. P. y col. 2004. *Farmacología* (5ta ed). Madrid-España.

38. Rivas, E., Lengua, L., Liu, H., Salazar, A., Román, L., Rabanal, P., Castañeda, B., Manriquez, R. y L. Ibañez. 2005. Estudio de la actividad analgésica de extractos metanólicos de *Maytenus krukovii* y *Aristeguietia discolor* en ratones frente al Ibuprofeno. Revista Horizonte Médico. Vol. 5 num. 1. Universidad San Martín de Porres, La Molina. Perú. Pp. 57-61.
39. Russell, W.M.S. y R.L. Burch. 1992. The principles of humane experimental technique. London: Methuen. Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), Potters Bar, Herts, UK: England. Special edition: 238.
40. Santoro, M.L. 2013. Cuidados con las ratas, ratones y conejos durante la experimentación animal. Instituto Butantan, Laboratorio de Fisiopatología, Sao Paulo, Brasil. 104 pp.
41. Shibata, M. Ohkubo, T. Takahashi, H. y R. Inoki. 2010. Modified formalin test: Characteristic biphasic pain response. Pain 38:347–52.
42. Sim, K.S., Nurestri, A.M.S., Sinniah, S.K., Kim, K.H., y A.W. Norhanom. 2010. Acute oral toxicity of *Pereskia bleo* and *Pereskia grandifolia* in mice. Pharmacogn Mag 6 (21):67–70.
43. Taylor, N.P., Kiesling, R. y R. Kraus. 1997. Cactus and Succulent Plants – Status Survey and Conservation Action Plan, South America. IUCN/SSC Cactus and Succulent Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
44. Valdivielso Serna, A. 1998. Dolor agudo, analgesia y sedación en el niño (II): Farmacocinética y farmacodinamia de los analgésicos no opioides. Asociación Española de Pediatría. 48:183-194.
45. Viacava Sánchez, A.P. 2005. Efecto Del L-Name en la analgesia experimental inducida por Dexketoprofeno y Ketoprofeno. Trabajo de investigación para optar al título de Cirujano-Dentista. Universidad de Chile. Facultad de Odontología. Santiago, Chile. 69 pp.
46. Villalta, I.I. 2014. Reflexiones sobre la medicina natural en El Salvador. <http://wegerichnat.com/articulo=1008>.
47. Wilson, P. 1995. Mecanismos del dolor: Anatomía y Fisiología. Dolor, Editorial Musby. 2^{da} Edición. Madrid, España. Pág. 65-77.
48. Wong, R.C., Kang, S., Heezen, J.L., Voorhees, J.J. y C.N. Ellis. 1984. «Oral ibuprofen and tetracycline for the treatment of acne

vulgaris». Journal of the American Academy of Dermatology.
Dec;11(6):1076-81.

49. Yeager, M.P. (1987) Epidural anesthesia and analgesia in high-risk surgical patients. Anesthesiology

ANEXOS

DESCRIPCION GENERAL

SUSTANCIA TRATAMIENTO: _____ VIA ADMINISTRACION: _____ CONCENTRACION O DOSIS: _____ ESPECIE: _____
 _____ SEXO _____ CEPA: _____

SUSTANCIA INDUCTORA A DOLOR: _____ VIA ADMINISTRACION: _____ CONCENTRACION O DOSIS: _____

| N° ratón | Peso (g) | Administración de tratamiento (hora) | Inducción a dolor (hora) | FASE 1 | | FASE 2 | |
|----------|----------|--------------------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | | | Tiempo de lamidas (total) | N° de veces de lamida | Tiempo de lamidas (total) | N° de veces de lamida |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

Anexo 1. Tabla para el control de datos por el método de la formalina

DESCRIPCION GENERAL

SUSTANCIA TRATAMIENTO: _____ VIA ADMINISTRACION: _____ CONCENTRACION O DOSIS: _____ ESPECIE: _____
SEXO _____ CEPA: _____

SUSTANCIA INDUCTORA A DOLOR: _____ VIA ADMINISTRACION: _____ CONCENTRACION O DOSIS: _____

| N° ratón | Peso (g) | Administración de tratamiento (hora) | Inducción a dolor (hora) | Número de contorsiones |
|----------|----------|--------------------------------------|--------------------------|------------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

Anexo 2. Tabla para el control de datos por el método de estiramiento por inyección de ácido acético