



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

Facultad de Químico Farmacobiología

*“Obtención de metabolitos secundarios de **Lobelia laxiflora** variedad **patzquarensis** con actividad antiinflamatoria en fitodermatitis por contacto inducida por **Toxicodendron radicans**.”*

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Licenciada Química Farmacobióloga

QUE PRESENTA:

p.Q.F.B. Jania Godínez Orozco

ASESOR DE TESIS:

D. en C. Marco Aurelio Pardo Galván

MORELIA, MICHOACÁN; FEBRERO 2020



Dedicatoria

A mis padres

Por sus consejos, su apoyo incondicional y su motivación, siendo un pilar fundamental durante mi formación y mediante su amor, su sabiduría y buenos valores que me han inculcado han hecho de mí una persona de bien tanto para sí misma como para la sociedad.

A mi asesor

D.C. Marco Aurelio Pardo Galván, quien mediante su guía y su dirección contribuyó en gran medida en mi formación académica, otorgándome las herramientas necesarias para desempeñarme como profesional del área de la salud.

A Fernanda García González, de quien espero ser un buen modelo a seguir y una inspiración para su vida futura.

Agradecimientos

Me gustaría extender mis más sinceros agradecimientos a mi asesor de tesis, el D.C. Marco Aurelio Pardo Galván, por haberme brindado su confianza, su tiempo y su disposición, siendo parte sustancial de mi proceso de formación académica y por quien fue posible llevar a cabo este proyecto, al igual que a la D.C. Ana Edith Higareda Mendoza por su tiempo, su confianza y su apoyo, siendo de gran importancia para este trabajo de investigación.

Asimismo, quisiera agradecer al Biol. Ramón Godínez Pacheco, por su orientación y gran apoyo a nivel profesional y como padre. También quisiera expresar mi gratitud hacia el D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado, así como a sus estudiantes (Karen, Antonio, Luis Donald, Lireny y Héctor), por su participación y contribución en el desarrollo de este proyecto, y a la M.V.Z. Madeline Hernández Rebollar, por su disposición, sus enseñanzas, su apoyo y su amistad incondicional.

Asimismo, quisiera agradecer a mis compañeros, quienes me acompañaron y brindaron su apoyo durante el desarrollo de este trabajo (Jorge, Aneth, Lesly, Julio, Dr. Carlos).

Por último, quisiera agradecer infinitamente a mis amigos Adriana, Luis, Karen, Jhonatan, Vanessa, Victoria y Antonio, quienes han sido una parte sustancial de este proceso de formación, brindándome su apoyo, su compañía y su amistad a lo largo de nuestra formación académica y personal.

ÍNDICE

Abreviaturas	1
Resumen	3
Abstract	4
1. Introducción	5
1.1. Medicina tradicional.....	5
1.1.1. Fitoterapia	6
1.1.2. Medicina tradicional mexicana.....	7
1.2. <i>Toxicodendron radicans</i>	9
1.3. Inflamación.....	11
1.3.1. Mediadores preformados.....	14
1.3.2. Mediadores sintetizados <i>de novo</i>	15
1.3.3. Sistema de complemento	21
1.3.4. Moléculas de adhesión	23
1.4. Reacciones de hipersensibilidad	25
1.5. Dermatitis por contacto	32
1.6. Antiinflamatorios esteroideos: corticosteroides	35
2. Antecedentes	40
2.1. Metabolitos secundarios de plantas con actividad antiinflamatoria.....	40
2.1.1. Flavonoides.....	41
2.1.2. Alcaloides.....	42
2.1.3. Terpenos	43
2.2. Actividad antiinflamatoria de plantas del género <i>Lobelia</i>	44
3. Justificación.....	46
4. Hipótesis	46
5. Objetivos.....	47
5.1. Objetivo general	47
5.2. Objetivos específicos	47
6. Materiales y métodos	48
6.1. Obtención del extracto de acetato de etilo de hoja de <i>Lobelia laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>	48

6.2. Obtención de metabolitos secundarios con actividad biológica del extracto de hoja de <i>L. laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i> mediante métodos químicos	48
6.3. Método preparativo para la obtención de ácido ursólico y ácido oleanólico a partir de <i>L. Laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>	49
6.4. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de <i>L. laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i> en un modelo <i>in vivo</i> (<i>Mus musculus</i>)	50
7. Resultados.....	52
7.1. Obtención del extracto de acetato de etilo de hoja de <i>Lobelia laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>	52
7.2. Obtención de metabolitos secundarios con actividad biológica del extracto de hoja de <i>L. laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i> mediante métodos químicos	52
7.3. Método preparativo para la obtención de ácido ursólico y ácido oleanólico a partir de <i>L. Laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>	57
7.4. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de <i>L. laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i> en un modelo <i>in vivo</i> (<i>Mus musculus</i>)	58
8. Discusión	62
9. Conclusión.....	64
10. Anexos	65
10.1. parámetros y condiciones a establecer previos al montaje de una cromatografía en columna	65
11. Referencias.....	68
12. Bibliografía complementaria	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Lobelia laxiflora</i> variedad <i>patzquarensis</i>	8
Figura 2. Hojas de hiedra venenosa (<i>Toxicodendron radicans</i>)	9
Figura 3. Hojas de “Chechem” (<i>Metopium brownei</i>)	10
Figura 4. Esquema general de la reacción inflamatoria	13
Figura 5. Efectos de las citocinas en las células inmunes	15
Figura 6. Vías de activación del sistema de complemento: vía clásica, vía alterna y vía de la lectina	22
Figura 7. Movimiento leucocitario regulado por quimiocinas	23
Figura 8. Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad propuesta por Gell y Coombs, y ampliada por W.J. Pichler	26
Figura 9. Mecanismo de reacción de hipersensibilidad de tipo I	27
Figura 10. Reacciones de hipersensibilidad de tipo II	29
Figura 11. Fases del mecanismo de la hipersensibilidad tipo III	29
Figura 12. Extremidad de un infante con dermatitis de contacto eccematosa	33
Figura 13. Mecanismo de oxidación del urushiol	34
Figura 14. Biosíntesis de esteroides suprarrenales	35
Figura 15. Mecanismo de acción de los glucocorticoides	36
Figura 16. Estructura básica de los flavonoides	41
Figura 17. Estructura química de la cafeína	42
Figura 18. Estructura química del isopreno	43
Figura 19. Separación de la parte aérea de <i>Lobelia laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>	48
Figura 20. Medición del dorso del ratón con fitodermatitis por contacto inducida por savia de <i>T. radicans</i>	50
Figura 21. Extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico obtenidos a partir de hoja de <i>Lobelia laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>	52
Figura 22. Placas de TLC de las fracciones A, B y C vistas en luz visible y luz UV de las fracciones B y C	54
Figura 23. Placas de TLC de las fracciones D, E y F vistas en UV y luz visible	54
Figura 24. Perfil de la fracción B3 del extracto de <i>Lobelia laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i> obtenido mediante espectrometría de resonancia magnética nuclear de protón (RMN- ¹ H) y estructura química de los compuestos taraxerol, lupeol y β-amirina	55

Figura 25. Perfil de las fracciones E1 y E2 del extracto de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*, obtenidos mediante espectrometría de resonancia magnética nuclear de protón (RMN-¹H) y estructura química de los compuestos estereoisómeros ácido ursólico y ácido oleanólico..... 56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mediadores de la inflamación	14
Tabla 2. Mediadores quimiotácticos de la inflamación	20
Tabla 3. Principales moléculas de adhesión.....	25
Tabla 4. Efecto de los glucocorticoides sobre la transcripción génica.....	37
Tabla 5. Clasificación de los glucocorticoides tópicos.	38
Tabla 6. Efectos secundarios específicos en varios tejidos derivados de tratamiento prolongado con altas dosis corticoides	39
Tabla 7. Distribución de las fracciones en cromatografía en columna	50
Tabla 8. Concentración de metabolitos secundarios a probar en modelo in vivo	52
Tabla 9. Fracciones obtenidas por cromatografía en columna del extracto de <i>L. laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>	54
Tabla 10. Evidencia de la actividad antiinflamatoria de los metabolitos secundarios obtenidos en <i>L. laxiflora</i> var <i>patzquarensis</i>	56
Tabla 11. Fracciones a obtener en cromatografía en columna	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo A, tratado con ácido ursólico.....	59
Gráfica 2. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo B, tratado con ácido oleanólico.....	60
Gráfica 3. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo C, tratado con taraxerol, lupeol y β amirina	61
Gráfica 4. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo D, tratado con ácido ursólico, ácido oleanólico, taraxerol y β -amirina	62

ABREVIATURAS

ADP: Adenosín difosfato.

ACTH: Hormona adrenocorticotrópica.

AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos.

AP1: Factor de transcripción AP1

Arg: Arginina.

COX: Ciclooxygenasa.

COX-1: Ciclooxygenasa 1.

COX-2: Ciclooxygenasa 2.

cPLA₂: Fosfolipasa A₂ citoplasmática.

DC: Dermatitis por contacto

DCA: Dermatitis por contacto alérgica

DCI: Dermatitis por contacto irritativa

DNFB: Dinitrofluorobenceno

FcεRI: Receptor de alta afinidad para IgE

FDC: Fitodermatitis por contacto

GMCSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular 1

IFN-γ: Interferón gamma

IgE: Inmunoglobulina E

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

IL-1: Interleucina 1

IL-1 β: Interleucina 1 beta

IL-2: Interleucina 2

IL-4: Interleucina 4

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

IL-10: Interleucina 10

IL-12: Interleucina 12

IL-13: Interleucina 13

IL-17: Interleucina 17

IL-18: Interleucina 18

iNOS: Óxido nítrico sintetasa inducible

LDL: Lípidos de bajo peso molecular

MHC II: Complejo mayor de histocompatibilidad II

NF- κ B: Factor nuclear κ B

NK: Asesinas naturales

OMS: Organización mundial de la salud.

PAMPs: Patrones moleculares asociados a patógenos.

PG: Prostaglandinas

RANTES:

RG α : Receptor glucocorticoide

STAT: Transductor de señal y activador de la transcripción

T CD4: Linfocitos T CD4

T CD8: Linfocitos T CD8

Th1: Linfocitos T cooperadores tipo 1

Th2: Linfocitos T cooperadores tipo 2

Th17: Linfocitos T cooperadores 17

TLC: Cromatografía de capa fina

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

VCAM-1: Molécula de adhesión celular vascular 1

RESUMEN

En las últimas décadas el uso de la medicina tradicional ha tenido un gran auge tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo, debido a la ineficacia e ineficiencia de los fármacos sintéticos frente a las patologías más recientes, o bien, debido a que los tratamientos y técnicas más recientes pueden ser sumamente invasivas e incluso más perjudiciales que la enfermedad misma, por lo que la necesidad de búsqueda de métodos alternativos y complementarios de tratamiento ha ido en aumento, haciendo frente al uso de la medicina convencional o alopática. Mientras que la medicina convencional utiliza tratamientos basados únicamente en el conocimiento científico del cuerpo humano, la medicina tradicional tiene como objetivo tratar, además del cuerpo, a la mente y el espíritu del individuo, es decir, al individuo completo.

Gracias al conocimiento brindado por la medicina tradicional indígena ha sido posible llevar a cabo el tratamiento de múltiples padecimientos, basándose en el uso de plantas con propiedades curativas, permitiendo a los investigadores el estudio de las mismas para la obtención de metabolitos secundarios con actividad biológica para elaborar fármacos derivados de los mismos más potentes y seguros en comparación con los fármacos de síntesis.

En México, una de las comunidades indígenas más antiguas y con mayor influencia en la medicina tradicional es la de los purépechas, quienes mediante diversos rituales y con sus conocimientos de la herbolaria endémica ancestral, tratan diversas enfermedades. Uno de los ejemplos más representativos es el tratamiento que utilizan los campesinos en la zona de Tingüindín contra la dermatitis producida tras el contacto con la hiedra venenosa (*Toxicodendron radicans*) o “piquete de bembéricua” durante su labor, utilizando una planta endémica del género *Lobelia* conocida localmente como *tiriru-tsit- siki* o *contrabembéricua*, de la cual se ha demostrado su eficacia de manera empírica.

Es por ello que en el presente trabajo se llevó a cabo la obtención de los metabolitos secundarios de la planta endémica *Lobelia laxiflora variedad patzquarensis*, y se estudió su actividad antiinflamatoria en la fitodermatitis producida por *Toxicodendron radicans*.

Palabras clave: Medicina tradicional, herbolaria, bembéricua, inflamación, tiriru-tsitsiki.

ABSTRACT

On the last decades, use of traditional medicine is increasing both in developed and developing countries because synthetic drugs are inefficient and ineffective against recent pathologies or because some recent treatments and practices can be very invasive and even more aggressive than the illness, so researching of new alternative and complementary methods are increasing, facing to allopathic or conventional medicine. While traditional medicine uses treatments based only on the scientific knowledge of the human body, traditional medicine has the objective of treat, also human body, the soul and spirit of the patient, I mean, complete individual.

Thanks to knowledge obtained from Indigenous traditional medicine, was possible to fabricate treatments against multiple illness, based on use of medicinal plants and allowing to researchers make studies of those to obtain secondary metabolites with biological properties and to fabricate drugs derivate from those plants, with higher potency and more secure in comparison with synthesis drugs.

In México, one of the most antiques indigenous communities and with major influence on the use of traditional medicine is Purépecha's, through many rituals and their ancestral endemic herbaria they treat diverse diseases. A representative example is the treatment used by local peasants in Tingüindín against dermatitis produced after contact with poison ivy (*Toxicodendron radicans*) or picket of *bembéricua* on their job, using an endemic plant from *Lobelia* gender locally known as *tiriru-tsit- siki* or *contrabembéricua*, which was demonstrated on an empirical way its efficacy.

Because of that, on the present thesis we obtained secondary metabolites from endemic plant called *Lobelia laxiflora variety patzquarensis*, and were studied its anti-inflammatory activity on the contact phytodermatitis-induced to *Toxicodendron radicans*.

Key words: Traditional medicine, herbaria, bembericua, inflammation, tiriru-tsi-tsiki.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Medicina tradicional

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la medicina tradicional, también llamada medicina alternativa, blanda, marginal, ortodoxa, no convencional, popular “es la suma de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentales en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas y que se utilizan para mantener la salud, tanto física como mental” (OMS, 2013).

Hasta la actualidad se desconoce con exactitud su origen, sin embargo, se puede considerar que la medicina tradicional surgió casi como la vida del hombre, ante la necesidad del hombre de preservar su salud, esto mediante la observación y mimetismo del comportamiento de algunos animales aparentemente enfermos.

Un claro ejemplo es el de las civilizaciones antiguas, quienes legaron evidencia escrita de tratamientos para una gran variedad de enfermedades fisiológicas y también espirituales de sus poblaciones; tal es el caso de Egipto, el mayor registro farmacéutico conocido hasta el momento es el *Papiro de Ebers*, el cual data del año 1500 A.C y contiene alrededor de 700 medicamentos (principalmente plantas, órganos de animales y algunos minerales), además de diversas formulaciones como gargarismos, inhalaciones, cataplasmas, infusiones, píldoras y ungüentos, utilizando como vehículos cerveza, leche, vino e incluso miel para su administración (Newman, Cragg, & Snader, 2000).

Actualmente, en los países subdesarrollados, el uso de plantas con fines terapéuticos representa una alternativa en el tratamiento de diversas afecciones del ser humano, particularmente en las zonas rurales, debido a la baja economía entre los individuos que habitan dichas comunidades. Muchas veces no tienen fácil acceso a la atención médica primaria proporcionada por los sistemas de salud, y, por ende, no tienen acceso a los fármacos modernos, por lo que utilizan la medicina tradicional para cubrir sus necesidades, la cual se basa principalmente en el uso de extractos vegetales (Reyes & Castro, 2017).

Por otra parte, hay que destacar que la medicina tradicional se encuentra asociada estrechamente a las plantas medicinales, siendo el recurso más abundante, accesible y conocido. Sin embargo, la medicina tradicional es mucho más que botánica medicinal, ya que comprende otras técnicas incluyendo la fisioterapia, la hidroterapia, la quiropraxia, entre otras, ya que podemos encontrar una amplia gama de especialistas considerados *terapeutas tradicionales*, entre los cuales se encuentran los curanderos, yerberos, sobadores, parteras, entre otros, quienes además de emplear la herbolaria, llevan a cabo rituales ceremoniales, o bien, hacen uso de recursos animales como huevos, leche o miel, con el objetivo de aliviar los malestares del individuo enfermo (Dianelis et al., 2014; Jiménez Silva, 2003).

1.1.1. Fitoterapia

La fitoterapia es considerada como la forma más antigua de atención médica que ha conocido la humanidad, además de la más estudiada, ya que la mayor parte de los fármacos actuales están basados en los principios activos de las plantas (Dianelis et al., 2014).

De acuerdo con Cañigüeral y Vila, la fitoterapia (también conocida medicina herbaria, como medicina botánica o fitomedicina) se define como la “ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico”. (Cañigüeral & Vila, 2005). Cabe agregar que la propiedad curativa de las plantas es el indicativo en que el remedio interactúa con la fisiología humana. En algunos casos, dicha acción se debe a la presencia de una determinada sustancia química secretada por la planta misma, la cual tiene un impacto directo sobre la actividad fisiológica del individuo, si se conoce cuál es la enfermedad a tratar y se conocen las propiedades herbarias de la misma para lograr el efecto adecuado (Pascual et al., 2014).

La utilización creciente de la fitoterapia no se limita únicamente al aumento en el interés por los tratamientos naturales y/o poco convencionales ante los problemas de salud actuales, sino también a la creciente evidencia sobre la seguridad y eficacia de los mismos, siendo los siguientes factores quienes han jugado un importante rol en esta evolución (Cañigüeral & Vila, 2005):

- a) El descubrimiento de efectos adversos en fármacos de síntesis.
- b) El mejor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados.
- c) El desarrollo de métodos analíticos que facilitan el control de calidad.
- d) El desarrollo de nuevas formas de preparación y de administración de los medicamentos fitoterápicos.
- e) El aumento de la automedicación, ya que los productos fitoterápicos son, en general, menos peligrosos y por tanto más aptos para la automedicación.

La demanda de productos naturales de interés farmacéutico provenientes de plantas se ha incrementado en los últimos años dada la limitación de los procesos de obtención de medicamentos basados en la síntesis química (Pérez-Alonso & Jiménez, 2011). En este contexto surgen los fitofármacos, los cuales se caracterizan por tener bajo costo, siendo ideal para su aplicación en atención primaria de salud, su uso es tradicional, es decir, está basado en el antecedente y experiencia de miles de personas a través del tiempo, están siendo desarrollados en todas las universidades y centros de investigación alrededor del mundo, y poseen un índice de toxicidad menor en comparación con los productos de síntesis (Pascual et al., 2014)

El aislamiento y estudio de las sustancias naturales ha sido una preocupación central de las Ciencias Químicas y Biológicas por más de 200 años, por lo que, en un intento para producir fármacos de origen natural, los químicos y farmacólogos se han dedicado a la obtención y

purificación de los *compuestos activos* que se producen mediante el metabolismo propio de las plantas (Pascual et al., 2014; Prieto et al., 2004).

El metabolismo secundario vegetal consiste en la biosíntesis, la transformación y la degradación de los compuestos endógenos a través de proteínas especializadas, formadas como resultado de múltiples procesos de diferenciación, dando lugar a compuestos químicos denominados *metabolitos secundarios*, que de acuerdo con Valares son “compuestos químicos que cumplen funciones no esenciales en ellas, ya que no intervienen en el metabolismo primario, pero les confiere unas claras ventajas selectivas interviniendo en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente” (Valares Masa, 2011). Son compuestos derivados del metabolismo primario de las plantas distribuidos limitadamente y que no presentan una función específica en el metabolismo primario, sin embargo, cumplen un papel ecológico en la planta misma, ya sea como defensa ante animales herbívoros, microorganismos (virus, hongos, bacterias), como sustancias alelopáticas y fitoalexinas; además pueden ser sintetizados ante condiciones adversas como la competencia con otras especies de plantas por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes, la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico, o bien, pueden actuar de manera simbiótica con otros organismos, atrayendo insectos polinizadores y dispersores de semillas y frutos (Pérez-Alonso & Jiménez, 2011; Sepúlveda et al., 2003).

1.1.2. Medicina tradicional mexicana

Por otra parte, en México la medicina tradicional es ampliamente utilizada, ya que cuenta con un gran número de técnicas y tratamientos que se han desarrollado a través del tiempo como respuesta a problemas de salud de las diversas regiones en donde éstas se localizan, y su prevalencia radica en la transmisión de sus conocimientos por generaciones. La medicina tradicional mexicana se ha modificado a través de los años, interactuando con otros modelos terapéuticos para poder subsistir y adecuarse a las nuevas estrategias de salud. Sin embargo, aún hoy en día para la población indígena es el principal, o bien, el único recurso con el que cuentan para la atención a la salud, siendo muchas veces complementario al uso de la medicina convencional o académica (Jimenez Silva, 2003; Viesca, 2017)

Un claro ejemplo de la medicina tradicional mexicana es la medicina tradicional purépecha, la cual en la antigüedad era llevada a cabo por un médico o *Xurimecha* que se encontraba al servicio del jefe supremo o *Caltzontzin*, el cual empleaba hierbas medicinales, muchas de las cuales eran obtenidas de un jardín botánico que se encontraba en el cerro llamado *Zirate*, cerca de Santa Fe de la Laguna, o bien, a través del comercio con otras culturas indígenas (Iglesias, 2016).

Gioanetto y Blas Cacari realizaron un fichero etnobotánico y herbolario purépecha que contiene diversas especies vegetales de uso medicinal, indicando la parte de la planta empleada, la posología de la práctica terapéutica de acuerdo a la enfermedad para la que

es utilizada. En estos estudios se incluye el uso de la planta *Lobelia laxiflora* en afecciones como la dermatosis, contra el mal olor de pies, o bien, contra la *bembéricua* (*Toxicodendron radicans*) (Gioanetto & Blas Cacari, 1998). Asimismo, en 2015, Bello y colaboradores inventariaron a las especies vegetales endémicas en Nuevo San Juan Parangaricutiro, en donde mencionaron el uso medicinal de *Lobelia laxiflora* en erupciones en la piel (Bello et al., 2015).

La planta *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis* (en purépecha *catamba acuitiziri*) o *contrabembéricua* se localiza en bosques de encino y pino del norte del estado de Michoacán. Es una planta densamente pubescente, con hojas lanceoladas, elípticas o angostamente ovaladas, de 4 a 10 centímetros de largo, por 1.5 a 4.5 centímetros de ancho; con inflorescencia alargada, de base foliosa y compuesta de múltiples flores y pedicelos comúnmente rígidos y derechos (Figura 1). Florece generalmente de febrero a julio (J. Rzedowski & Calderón, 1997)



Figura 1. *Lobelia laxiflora* variedad *patzquarensis*. Tomada por Jania Godínez Orozco.

Es de nuestro interés llevar a cabo el análisis y/o estudio de la planta *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*, que, siendo una planta endémica, y que forma parte de la medicina tradicional purépecha, ha demostrado ser sumamente eficaz en el tratamiento de múltiples padecimientos, especialmente en la dermatosis por contacto provocada por la hiedra venenosa o *bembéricua* (*Toxicodendron radicans*).

1.2. *Toxicodendron radicans*

Toxicodendron radicans, antiguamente conocida como *Rhus toxicodendron* es una planta perteneciente a la familia *Anacardiaceae*, que puede encontrarse como una vaina trepadora aferrada a la corteza de los árboles o que puede crecer de forma horizontal a lo largo del suelo, o bien, como un arbusto recto (Meister, 2007). Se caracteriza por ser una planta caducifolia, con ramillas glabras o pubérulas y un peciolo de hasta 15 centímetros de largo, peciólulos hasta de 6 cm de largo, el correspondiente al foliolo terminal suele ser mucho más largo que los laterales, foliolos (son casi siempre 3), ovados a elípticos o lanceolados, de 4 a 12 centímetros de largo y de 2.5 a 8 cm de ancho. Pueden ser agudos o acuminados en el ápice, truncados a cuneados en la base, con un margen entero a dentado, a veces lobado o profundamente hendido y sus laterales a menudo son inequiláteros, de textura membranacea, glabros a densamente velutinos en una o en ambas caras (Figura 2). Su inflorescencia se encuentra en forma de panículas axilares, abiertas o tirsoideas, de hasta de 10 centímetros de largo, con pedicelos de 2 a 5 milímetros de largo, bractéolas que pueden ser angostamente deltoides o lanceoladas, de aproximadamente 1 milímetro de largo; con sépalos ovados, de aproximadamente 1 milímetro de largo y pétalos de color verdoso, blanco o crema, con nervaduras pinnadas oscuras, lanceolados a oblanceolados, de 2 a 5 milímetros de largo, extendidos o reflejos, glabros; filamentos más largos que los sépalos, anteras lanceoladas u oblongas, de 1 a 1.5 milímetros de largo. El fruto puede ser globoso a ligeramente reniforme o algo comprimido, de 3 a 7 milímetros de diámetro, de color crema o amarillento-verdoso y estriado en la madurez, glabro o pubescente (Jerzy Rzedowski & Calderón, 1999)



Figura 2. Hojas de hiedra venenosa (*Toxicodendron radicans*). Tomada de *Hiedra Venenosa*. Meister, Kyle K. Michigan State University Extension.

Se encuentra en áreas abiertas, como bosques mesófilos de montaña, así como en encinares y pinares húmedos, orillas de quebradas y lagos, y trepando cercos y árboles. Abundante en algunos malpaíses de lava volcánica, donde a menudo asume la forma

rastrera. Florece de marzo a mayo, ocasionalmente hasta septiembre (Meister, 2007; Jerzy Rzedowski & Calderón, 1999).

Al igual que en otras familias, en la familia *Anarcadiaceae* se pueden encontrar diversas sustancias químicas, algunas con actividad defensiva, antimicrobiana y repelente contra insectos, y otras son altamente tóxicas al contacto, como los fenoles o catecoles, los cuales se acumulan en forma de resinas, generando reacciones que pueden ser muy leves, pero también mortales dependiendo de la zona donde se produzca el contacto, de la especie que lo produzca y de susceptibilidad por parte del individuo. El principal constituyente de las plantas de la familia *Anarcadiaceae*, principalmente del género *Toxicodendron*, responsable de causar actividad biológica es el urushiol, un aceite incoloro o amarillo claro, presente en hojas, tallo y raíces. Se encuentra principalmente en hiedra venenosa, aunque también se puede encontrar en otros géneros como *Gluta*, *Holigarna*, *Lithrea*, *Metopium*, *Semecarpus* y *Smodingium* (Figura 3) (Cabezas, 2018).



Figura 3. Hojas de “Chechem” (*Metopium brownei*). Tomada de “*Dermatitis por contacto a Metopium brownei* (Chechem). Observaciones clínicas de 20 casos en Quintana Roo, México”. Quintanilla & Arenas, 2009. *Revista Dermatología cosmética, médica y quirúrgica*.

1.3. Inflamación

El organismo humano cuenta con mecanismos de defensa que le permiten detectar y eliminar agentes infecciosos, curar heridas y eliminar residuos tóxicos, así como la detección y eliminación de células neoplásicas (Sorroza, Quizhpe, Jinez, & Jines, 2018). Uno de ellos es la inflamación, que es un proceso complejo que se caracteriza por una serie de eventos que permiten el aislamiento, contención y destrucción del agente lesivo por medio de cambios vasculares y celulares mediados por factores químicos, y se presenta como una reacción inducida por microorganismos, o bien, debido a diversos estímulos que inducen la lesión tisular, como traumatismos, toxinas, isquemias, interacciones antígeno-anticuerpo, entre otras (Pavillard Rodríguez, 2019; Villalba, 2014)

En general, el proceso inflamatorio se caracteriza por ser una respuesta focalizada, es decir, tiende a circunscribir la zona afectada por el agente agresor, denominada *foco inflamatorio*. Además, tiende a ser inmediato, y puede manifestar una respuesta específica a la lesión, mediante la atracción de las células inmunes de los tejidos cercanos y, junto con las alteraciones vasculares, permitir la llegada de otras células inmunes (Bórdes et al., 2010).

Son muchos los agentes causales que pueden inducir a una respuesta inflamatoria, los cuales son agrupados de dos maneras: agentes exógenos, que comprende agentes biológicos (como bacterias, virus, hongos y parásitos), físicos (traumatismos, procedimientos quirúrgicos, quemaduras y radiaciones), o químicos (álcalis y ácidos, toxinas, algunos colorantes, quelantes, saborizantes, y conservadores, artículos de uso personal como desodorantes, tintes, cosméticos, lociones, artículos de uso doméstico como detergentes, pegamentos, cáusticos desinfectantes, insecticidas o aromatizantes, contaminantes ambientales, o bien, el consumo de ciertos medicamentos, alcohol y tabaco), y agentes endógenos, que incluye alteraciones genéticas en receptores intracelulares, proteínas codificantes para inflammasoma o deficiencias en la inhibición del complemento (Vega Robledo, 2008).

Cada tipo de estímulo genera una respuesta característica que, a nivel macroscópico, se encuentra usualmente acompañada por los signos clínicos de la inflamación descritos por Celso en el siglo X a.C.: tumor, rubor, calor y dolor. Además, como resultado de la limitación provocada por los signos ya descritos, puede llegarse a producir una pérdida local de la funcionalidad del tejido dañado. No obstante, la manifestación de los signos descritos anteriormente es producida debido a los siguientes eventos: el aumento de la permeabilidad capilar, incremento de la irrigación y flujo sanguíneo en el foco inflamatorio, aumento local de la temperatura, distensión de los tejidos y liberación de mediadores químicos (H. A. Gómez et al., 2011).

Por otro lado, la inflamación se puede ser clasificada de diversas formas: de acuerdo con su etiología, según su localización, o bien, respecto a su temporalidad. Etiológicamente, la

inflamación puede ser de tipo *infecciosa* (producida por microorganismos patógenos como bacterias, virus o parásitos, o por las toxinas que éstos secretan), *traumática* (debido a golpes intensos, como los esguinces o higromas), *térmicas* (como consecuencia de quemaduras por calor o congelamiento), por *exposición a agentes químicos ambientales*, por *presencia de cuerpos extraños* (como las astillas) e *inmunitaria* (como las alergias o reacciones de hipersensibilidad). Según su localización, la inflamación puede ser *focal* (producida en órganos o zonas específicas) o *diseminada* (producto de la propagación de procesos inflamatorios persistentes, como la metástasis. No obstante, la clasificación más utilizada es de acuerdo a la temporalidad o tiempo de duración del proceso inflamatorio, dividiéndose en dos grupos: *agudo*, cuyo comienzo es rápido y de corta duración, o *crónico*, que a diferencia del anterior es un proceso prolongado, donde se genera un constante intento de reparación y, por consiguiente, la destrucción del tejido dañado (Villalba, 2014).

La respuesta inflamatoria aguda proporciona protección después de la lesión y/o infección del tejido restringiendo el daño en la zona afectada, reclutando células inmunitarias para eliminar el agente causal e iniciar el proceso de reparación tisular. Por otro lado, la inflamación crónica es consecuencia de la exposición continua al antígeno invasor, debido a la persistencia de agentes lesivos o enfermedades autoinmunes, generando la acumulación y activación de macrófagos y linfocitos, así como fibrosis en el tejido dañado o necrótico (Brunton, Hilal-Dandan & Knolimann, 2018).

El proceso inflamatorio se desarrolla a través de una serie de pasos secuenciales, los cuales se llevan a cabo de la siguiente manera: cuando el agente lesivo ingresa al organismo es reconocido por las células y moléculas del hospedero, y mediante ciertos estímulos, se lleva a cabo la liberación de mediadores *preformados* por algunos leucocitos, principalmente mastocitos, y sintetizados *de novo*, producidos por los fosfolípidos de membrana. Una vez liberados los mediadores, se producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de otras células que producirán a su vez otras moléculas provenientes de las zonas circundantes al foco inflamatorio (Figura 4). Posteriormente, los leucocitos y ciertas proteínas son activados y actúan en conjunto para eliminar al agente agresor. Para finalizar el proceso, posterior a la eliminación del agente lesivo, la reacción es controlada mediante una serie de mecanismos inhibidores del proceso inflamatorio y, por consiguiente, se procede a la reparación total o parcial de los tejidos (Bórdes et al., 2010).

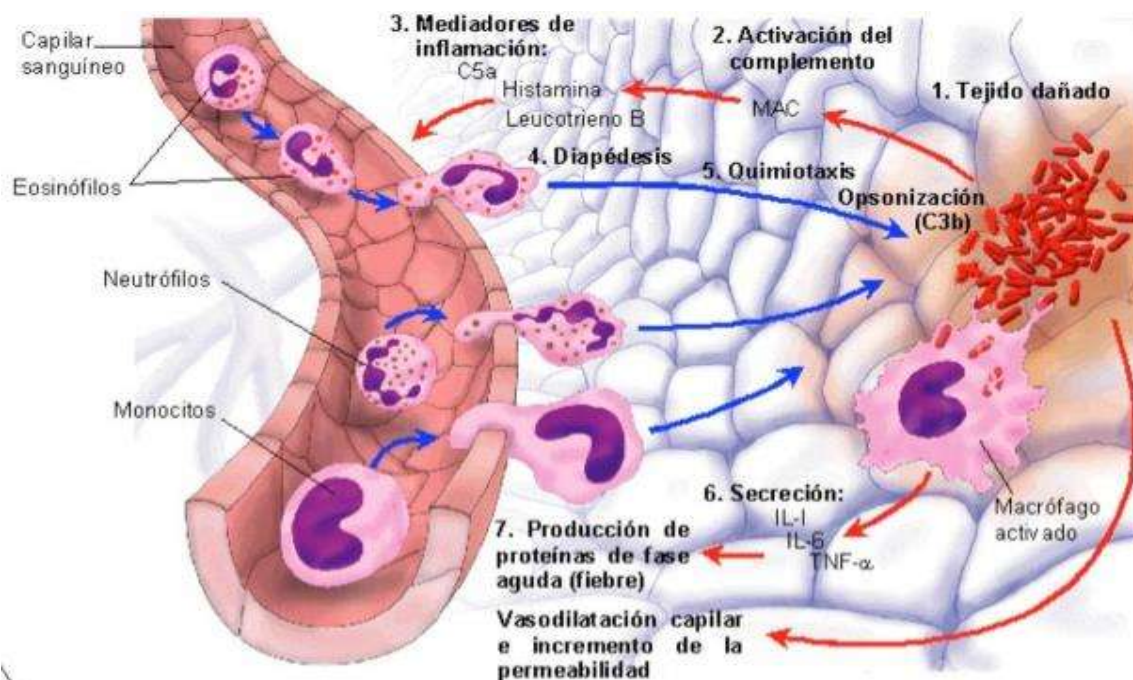


Figura 4. Esquema general de la reacción inflamatoria. Tomada de <https://simplebooklet.com/publish.php?wpKey=hFP1i9DRbdxXEwU34pWnWA#page=0> Consultado el 19 de octubre de 2019.

Para iniciar el proceso inflamatorio se requiere de señales inductoras, que pueden ser exógenas o endógenas, siendo las primeras divididas en dos tipos: de origen infeccioso, donde los microorganismos pueden inducir a través del reconocimiento por medio de receptores especializados, quienes identifican patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) de un microorganismo en particular, o bien, mediante sensores capaces de detectar cualquier trastorno, como pérdida de potasio intracelular o la degradación de proteínas; y de origen no infeccioso, como ocurre con alérgenos, cuerpos extraños, sustancias tóxicas o irritantes. Las señales endógenas por su parte, pese a no estar del todo identificadas, son generadas en los tejidos con deficiencia funcional debido a un daño o estrés (Pavón, Jiménez & Garcés, 2016).

Por otra parte, los *mediadores de la inflamación* son las moléculas responsables de regular la respuesta vascular producida por el agente lesivo, de manera que desencadenan y amplifican el proceso inflamatorio, además de establecer las manifestaciones clínicas y patológicas del mismo, y pueden ser ordenados en clases de acuerdo con propiedades biológicas que ejecuten (Tabla 1) (Kumar, Abbas & Aster, 2015). También pueden ser clasificados según su origen, ya sea de tipo celular o plasmático. Los mediadores de origen celular son aquellos que se originan o son sintetizados a partir de células inmunes; estos se dividen en dos tipos: mediadores preformados, que pueden ser de tipo amínico (como la histamina o la serotonina), los cuales se encuentran almacenados en el interior de los gránulos de los mastocitos y son liberados al inicio del proceso inflamatorio, o de nueva

síntesis (*sintetizados de novo*), que son producto del metabolismo del ácido araquidónico (como prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos) o de carácter glicoprotéico (como las citocinas y quimiocinas).

Mediador químico	Actividad biológica
Aminas vasoactivas	
Histamina	Incremento de la permeabilidad
Serotonina	
Bradicinina	Incremento de la permeabilidad y dolor
Anafilotoxinas (Sistema de complemento)	
C3a	Incremento de la permeabilidad, opsonina
C5a	Incremento de la permeabilidad, quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Eicosanoides	
Prostaglandinas	Vasodilatación, dolor, fiebre, activación de otros mediadores
Leucotrieno B4	Quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Leucotrienos C4, D4, E4	Incremento de la permeabilidad, vasoconstricción
Citocinas	
IL1	Reacciones de fase aguda, activación endotelial, quimiotaxis
TNF	
Otros	
Óxido nítrico	Incremento de la permeabilidad, vasodilatación, citotoxicidad
PAF	Incremento de la permeabilidad, cebado de leucocitos
Radicales libres	Incremento de la permeabilidad, lesión endotelial y tisular

Tabla 1. Mediadores de la inflamación. Tomada de *Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares*. Regal, et.al. 2016. Revista Finlay.

1.3.1. Mediadores preformados

La histamina es un neurotransmisor compuesto por un anillo imidazólico y una cadena lateral etilamino, que se encuentra principalmente en mastocitos y basófilos, y es secretada debido al aumento de la concentración intracelular de Ca^{2+} , en respuesta a lesiones físicas, reacciones alérgicas, liberación de los fragmentos C3a y C5a del complemento, neuropéptidos y citocinas como la IL-1 e IL-8. La serotonina por su parte, es un neurotransmisor conformado por un anillo indólico y una cadena lateral etilamino, que se encuentra principalmente en plaquetas, que se libera al entrar en contacto con el colágeno, trombina, adenosindifosfato (ADP) y complejos antígeno-anticuerpo, permitiendo la vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar, así como la activación de las células endoteliales (Brunton, Hilal-Dandan & Knolimann, 2018; Florez, Armijo & Mediavilla, 2014).

Las prostaglandinas (PG) y tromboxanos (TX) son mediadores lipídicos obtenidos a partir de fosfolípidos de membrana y sintetizados por la enzima ciclooxygenasa (COX), que participan en el estímulo de reacciones vasculares y sistémicas de la inflamación o, por el contrario, pueden inhibir la función de las células inflamatorias e inducir a la vasoconstricción.

Asimismo, los leucotrienos, al igual que los anteriores son sintetizados por la enzima lipooxigenasa con efectos vasculares como la quimioatracción de neutrófilos y estimulación de la adhesión de fagocitos al endotelio, incrementando la permeabilidad vascular (Toledo, 2014).

1.3.2. Mediadores sintetizados *de novo*

Las citocinas son glucoproteínas o polipéptidos extracelulares, hidrosolubles, que varían entre los 8 y 30 kDa, generadas en diversas células del sistema inmune como los macrófagos, linfocitos, células endoteliales, células epiteliales y del tejido conjuntivo, con el objetivo de regular las funciones de otros tipos celulares, actuando tanto en células vecinas como en las propias células que las producen, necesarios para conducir la respuesta inflamatoria hacia los sitios de infección y lesión, favoreciendo así a la apropiada cicatrización del tejido. Asimismo, intervienen como factores de crecimiento de las células hematopoyéticas, contribuyendo en su actividad, proliferación y diferenciación, y regulan la producción y la actividad de otras citocinas, capaces de aumentar o disminuir la respuesta inflamatoria. Integran una red de interacciones que conecta distintos tipos celulares, actuando de manera que permiten la inducción o supresión de su propia síntesis o la de otras citocinas, actuando de forma sinérgica o antagónica (Figura 5) (Barros et al., 2011; Filella et al., 2002).

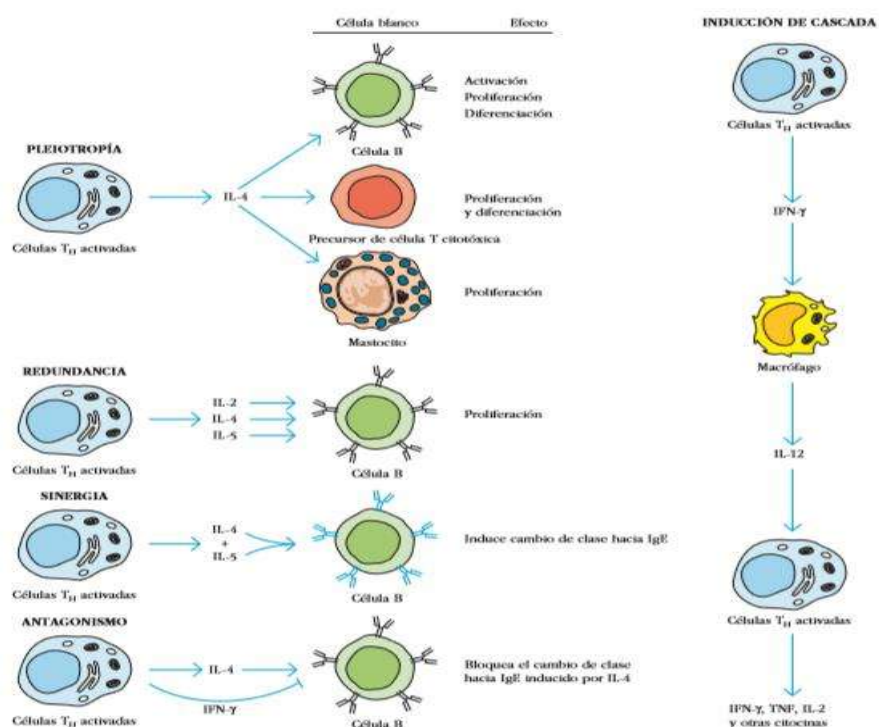


Figura 5. Efectos de las citocinas en las células inmunes. Se considera que las citocinas pueden comportarse de diferentes maneras: si es capaz de inducir diferentes efectos biológicos, dependiendo de la naturaleza de las células blanco, puede ser pleiotrópica; si dos o más de ellas median funciones similares se les considera redundantes; si al unirse dos citocinas presentan una mayor actividad que de forma individual estas producen

un efecto sinérgico, o por el contrario, si una de las citocinas inhibe la actividad de la otra produce un efecto antagónico. Tomada de Kuby *Inmunología*. Owen, Punt & Stranford. 2016.

Las citocinas pueden ser llamadas de diferentes maneras: según la célula que las genera se les denomina linfocinas o monocinas, también se encuentran como interleucinas, ya que funcionan como señales de comunicación entre distintos leucocitos, o bien, son nombradas debido a la función que desempeñan, como en el caso del factor de necrosis tumoral. Sin embargo, como muchas de estas moléculas son secretadas por una gran variedad de células, se les ha llamado acertadamente citocinas. Entre las principales citocinas destacan las mencionadas a continuación (Barros et al., 2011; Egea et al., 1998; Filella et al., 2002; Vega Robledo, 2010):

- Interleucina 1 (IL-1):

Es un polipéptido de unos 15-20 kDa con capacidad proinflamatoria, siendo su principal fuente fisiológica los macrófagos activos, pero también puede estar presente en fibroblastos y células endoteliales activadas. Presenta dos formas, denominadas IL-1 α e IL-1 β , derivadas de su correspondiente proteína precursora (pro-IL-1 α y pro-IL-1 β) y actúan sobre el mismo receptor (IL-1RI), por el que también compite el antagonista del receptor (IL-1AR) actuando como un autorregulador endógeno durante la lesión tisular, impidiendo su actividad. A diferencia de la IL-1 β , que se encuentra predominantemente en el espacio extracelular, la IL-1 α se encuentra en la circulación general excepto en casos de enfermedad grave.

- Interleucina 2 (IL-2)

Es una citocina proinflamatoria de 15 kDa producida en los linfocitos T activados, principalmente por células T-CD4, formando parte de la respuesta de tipo Th1, y en una menor cantidad en células T-CD8+, responsable de su progresión desde la fase G₀ a la fase S del ciclo celular. Lleva a cabo su acción biológica a través de un receptor de membrana que se conforma de 3 subunidades (α , β y χ). Se encarga de regular la expresión de antígenos leucocitarios de clase dos (HLA II) del complejo mayor de histocompatibilidad y controla de manera autócrina su síntesis, induciendo a la selección clonal de las células T y, tras la activación del linfocito se libera al suero la subunidad α en forma soluble. Además, induce la producción de otras citocinas para la activación de monocitos, neutrófilos y células Natural Killer (NK), como el IFN- γ y TNF- β .

- Interleucina 4 (IL-4):

Es una glucoproteína de 15 kDa producida por linfocitos T-CD4, mastocitos, eosinófilos y basófilos. Actúa sobre los macrófagos activados, por lo que reduce los efectos de las citocinas IL-1, TNF- α , IL-6 e IL-8, aumentando además su susceptibilidad al efecto de los glucocorticoides, e inhibe la producción de radicales libres de oxígeno como el óxido nítrico y las prostaglandinas.

- Interleucina 6 (IL-6)

Es una glucoproteína de 22 a 27 kDa, segregada por los macrófagos, monocitos, eosinófilos y hepatocitos e inducida por TNF- α e IL-1. Produce sus efectos biológicos a través de un receptor de membrana conformado por dos subunidades: R-IL-6 y gp 130, quienes una vez unidas a IL-6 son solubilizados, de manera que R-IL-6 actúa como agonista de la IL-6 y gp 130 actúa de forma antagónica ante dicha citocina.

- Interleucina 8 (IL-8)

Actúa como factor quimiotáctico para los leucocitos, fundamentalmente neutrófilos, favoreciendo su degranulación y estimulando la fagocitosis.

- Interleucina 10 (IL-10)

Producida por los linfocitos Th2 y es considerada la principal citocina antiinflamatoria, ya que inhibe la síntesis de las citocinas proinflamatorias IL-1, IL-6 y TNF- α secretadas por los macrófagos, así como el IFN- γ y la IL-2 producidas por los linfocitos T.

- Interleucina 12 (IL-12)

Es una glucoproteína de 70 kDa constituida por dos dominios necesarios para llevar a cabo actividad biológica: p40 y p35. La subunidad p40 tiene cierta homología con el dominio extracelular de la IL-6, mientras que la subunidad p35 tiene homología con la IL-6. Es producida por linfocitos B y, en menor cantidad, por linfocitos T. Actuando sobre linfocitos T de tipo Th1 induce la síntesis de IFN- γ y IL-2, mientras que también es capaz de reducir la producción de IL-4, IL-5 e IL-10 por parte de las células Th2.

- Interleucina 13 (IL-13)

Se trata de una citocina antiinflamatoria producida principalmente por células T-CD4, que actúa en las células B y monocitos, inhibiendo la producción de diversas citocinas: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, proteína inflamatoria de macrófago -1 α , IFN- α y TNF- α , así como de óxido nítrico, además de aumentar la síntesis del antagonista del receptor de IL-1.

- Interleucina 17 (IL-17)

Actualmente llamada IL-17A, es una glucoproteína de 155 aminoácidos vinculada a un radical disulfito, producida predominantemente en células T-CD4, que conduce a la formación de IL-6, IL-8 y G-CSF tanto en las células epiteliales como del endotelio, además de la molécula de adhesión intercelular (ICAM -1) en fibroblastos humanos.

- Interleucina 18 (IL-18)

Es una citocina que induce la síntesis de IFN- γ por parte de los linfocitos T, actuando de manera sinérgica con la IL-12, que aumenta la expresión de receptores de IL-18 y estos a su

vez la producción de IL-2, regulando por lo tanto la respuesta de células Th1 y, asimismo, disminuyendo la producción de IL-10.

- Factor de necrosis tumoral α (TNF- α)

También llamada linfoxina, es secretada por los linfocitos T activados, monocitos y macrófagos, destacando por su actividad citotóxica sobre algunos tipos tumorales por parte de células epiteliales, células endoteliales y fibroblastos, mediante un doble mecanismo que incluye: la inhibición de la angiogénesis, produciendo necrosis hemorrágica del tumor, y el aumento de la respuesta inmunitaria antitumoral, actuando sinérgicamente con el IFN- γ . Ejerce su función a través de dos receptores, TNF-R-I y TNF-R-II (de 55 y 75 kDa respectivamente), que también utiliza el TNF- β , presentando este último una homología de alrededor del 30% con respecto al TNF- α .

- Interferón γ (IFN- γ)

Es producido por los linfocitos T activados y por las células NK. Se encarga de inhibir la proliferación de células Th2, induce la expresión de los antígenos HLA de clase I y II y aumenta la actividad citolítica de linfocitos T citotóxicos, mediante el aumento de la expresión de la subunidad α del receptor para la IL-2.

- Quimiocinas

Son un grupo de péptidos de bajo peso molecular (de 7 a 15kDa) con una homología de entre el 20 y el 50% en su secuencia de aminoácidos, responsables de la atracción y la activación de los distintos tipos celulares que participan en la inflamación. Tanto las quimiocinas como sus receptores son capaces de controlar la migración y la residencia de las células inmunes. No obstante, en aquellas consideradas proinflamatorias su actividad puede ser inducida durante un proceso infeccioso, por ejemplo, en cambio otras son consideradas homeostáticas, ya que controlan la migración celular durante el desarrollo o mantenimiento de un tejido. Basándose en el primer residuo de cisteína, las quimiocinas son divididas en cuatro subfamilias: la familia CXC o α - quimiocinas, en las que interviene un aminoácido entre las primeras dos cisteínas, quienes estimulan principalmente la quimiotaxis de neutrófilos y, además contienen una secuencia Glu-Leu-Arg en el grupo amino terminal, siendo esencial para su unión al receptor (Tabla 2), la familia de las β -quimiocinas o CC, que estimulan principalmente a los monocitos, eosinófilos y basófilos, pero también linfocitos T y células NK, γ -quimocinas o C y δ -quimocinas o CX3 (Filella et al., 2002; Torres & Cavalheiro, 2015).

Quimiocina	Sinónimo	Receptor	Función inmune
CXC (α quimiocinas)			
CXC1	GRO	CXCR2	Tráfico de neutrófilos
CXC2	GRO	CXCR2	Tráfico de neutrófilos
CXC3	GRO	CXCR2	Tráfico de neutrófilos
CXC4	PF4	-----	Pro-coagulante
CXC5	ENA78	CXCR2	Tráfico de neutrófilos
CXC6	GCP-2	CXCR1, CXCR2	Tráfico de neutrófilos
CXC7	NAP-2	CXCR2	Tráfico de neutrófilos
CXC8	IL-8	CXCR1, CXCR2	Tráfico de neutrófilos
CXC9	MIG	CXCR3	Respuesta de Th1, CD8 y tráfico de células NK
CXC10	IP-10	CXCR3	Respuesta de Th1, CD8 y tráfico de células NK
CXC11	I-TAC	CXCR3	Respuesta de Th1, CD8 y tráfico de células NK
CXC12	SDF-1	CXCR4	Guiado de medula ósea
CXC13	BLC	CXCR5	Posicionamiento de células B y Tfh en nódulo linfático
CXC14	BRACK	-----	Guiado de macrófagos cutáneos
CXC15	Lunkina	-----	-----
CXC16	5R-PSOX	CXCR6	Migración y supervivencia de NKT e ILC
CXC17	DMC	-----	-----
C (γ- quimiocinas)			
XCL1	SCM-1 ^a	XCR1	Presentación cruzada por CD8 y CD
XCL2	SCM-1B	XCR2	Presentación cruzada por CD8 y CD
CX3 (δ- quimiocinas)			
CX3CL	Fractalcina	CX3CR1	Migración de NK, monocitos y células T
CC (β-quimiocinas)			
CCL1	I-309	CCR8	Tráfico de Th2 y T reg
CCL2	MCP-1	CCR2	Tráfico de monocitos
CCL3	MIP-1 ^a	CCR1, CCR5	Migración de macrófagos-NK e interacción de linfocitos T/ CD
CCL4	MIP-1B	CCR5	Migración de macrófagos-NK e interacción de linfocitos T/ CD
CCL5	RANTES	CCR1, CCR3, CCR5	Migración de macrófagos-NK e interacción de linfocitos T/ CD
CCL6	C-10	-----	-----
CCL7	MCP-3	CCR2, CCR3	Movilización de monocitos
CCL8	MCP-2	CCR1, CCR2, CCR3, CCR5	Respuesta Th2
CCL9	MIP-1Y	-----	-----
CCL10	MIP-1Y	-----	-----
CCL11	Eotaxina	CCR3	Migración de eosinófilos y basófilos

CCL12	MCP-5	CCR2	Tráfico de monocitos
CCL13	MCP-4	CCR2, CCR3, CCR5	Respuesta Th2
CCL14	HCC-1	CCR1	-----
CCL15	HCC-2	CCR1, CCR3	-----
CCL16	HCC-4	CCR1, CCR2, CCR5	-----
CCL17	TARC	CCR4	T reg, respuesta y migración de Th2
CCL18	PARC	CCR8	Respuesta Th2, marcados AAM
CCL19	MIP-3B	CCR7	Guía de células T y CD al nódulo linfático
CCL20	MIP-3 ^a	CCR6	Respuesta Th17, guía de células B y CD al tejido linfoide asociado al intestino
CCL21	SLC	CCR6, CCR7	Guía de CD y linfocitos T al nódulo linfático
CCL22	MDC	CCR4	Respuesta Th2, migración de linfocitos Th2 y T reguladores
CCL23	MIP-3	-----	-----
CCL24	Eotaxina-2	CCR3	Migración de eosinófilos y basófilos
CCL25	TECK	CCR9	Guiado de células T al intestino, migración de timocitos
CCL26	Eotaxina-3	CCR3, CX3CR1	Migración de eosinófilos y basófilos
CCL27	CTAK	CCR10	Traslado de linfocitos T a la piel
CCL28	MEC	CCR3, CCR10	Guiado de células T e IgA plasmático a la mucosa

Tabla 2. Mediadores quimiotácticos de la inflamación. Tomado de *International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. Murphy et.al. 2000. Pharmacological reviews*

Son consideradas multifuncionales, es decir, regulan además de la quimiotaxis otros procesos como la adhesión, degranulación, angiogénesis y desarrollo de células tanto hematopoyéticas como inmunes, así como la génesis de órganos linfoides, aunque presentan una poca o nula actividad sobre la proliferación celular. Asimismo, es importante destacar que pueden asociarse a algunas enfermedades autoinmunes e inflamatorias, como la esclerosis múltiple, artritis reumatoide o asma; además, algunos patógenos son capaces de mimetizar o inhibir funciones de las quimiocinas, para su propio beneficio o bien, emplean a sus receptores como medio de unión para invadir a las células. De acuerdo con su actividad biológica, la cual dependerá de las condiciones en las que fueron secretadas, las células que las expresan y sus receptores, podemos dividirlos en dos grupos: quimiocinas proinflamatorias, producidas en el transcurso de la reacción inmune o inflamatoria, y sirven para monitorear las defensas del organismo, siendo diversos los estímulos que inducen su liberación entre ellos, IL-1, TNF- α , IFN- γ , y otras señales específicas de daño tisular; y quimiocinas homeostáticas, quienes son producidas de manera continua y empleadas con el fin de controlar un adecuado desarrollo, mantener la homeostasis, o dirigir el movimiento de células circulantes a través de tejidos normales. Entre sus fuentes comunes se encuentran macrófagos, células T y células dendríticas. Un ejemplo clásico es la quimiocina quimiotrayente de linfocito B (BLC), la cual se expresa constitutivamente a niveles altos por células dendríticas en el folículo linfoide, en células B quimioatrayentes y células de memoria. Asimismo, las defensinas, quienes además de actuar como ligandos para receptores de quimiocinas y como antimicrobianos directos, fungen como

quimioatrayentes para los linfocitos T inactivos y para células dendríticas inmaduras (Lezama, 2006).

Otros mediadores de la inflamación son el óxido nítrico, producido en macrófagos, células endoteliales y neuronas, originado a partir de L-arginina mediante la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), que desempeña un papel importante en los componentes vascular y celular de la respuesta inflamatoria, ya que al ser vasodilatador, relaja el músculo liso vascular y disminuye la agregación plaquetaria; y el factor activador de las plaquetas proveniente de los fosfolípidos de membrana de las células endoteliales, plaquetas, mastocitos, basófilos y neutrófilos, que induce a la vasoconstricción y, a bajas concentraciones, induce vasodilatación durante el proceso inflamatorio (Toledo, 2014).

1.3.3. Sistema de complemento

Existen mediadores de origen plasmático, que consisten en proteínas que aparecen en la circulación como precursores inactivos, como ocurre en el sistema de complemento, el cual se encuentra conformado por más de 25 proteínas plasmáticas y de membrana celular, dentro de las cuales hay proteasas, inhibidores, inactivadores y receptores con diferentes propiedades fisicoquímicas. Algunas son componentes y se abrevian con la letra C y un número (C1 - C9), que una vez activado, generan dos segmentos de diferentes tamaños: un fragmento mayor y un fragmento menor, designados como *b* y *a* respectivamente, adoptando diferentes rutas: vía clásica, vía alterna y vía de las lectinas (Figura 6). Este sistema es empleado por el sistema inmunológico para la defensa contra agentes microbianos, de manera que, una vez activado, fabrica varios componentes que degradan a proteínas de complemento, produciendo aumento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis y opsonización (Berrón et al., 2003; Toledo, 2014).

Durante un proceso inflamatorio, el daño se produce como resultado del depósito de complejo de ataque a la membrana y ligandos de unión celular (como C4b y C3b), y por medio de las anafilotoxinas C5a y C3a, se lleva a cabo la activación y atracción de leucocitos con receptores de complemento, amplificando la lesión (Berrón et al., 2003; Lezama, 2015).

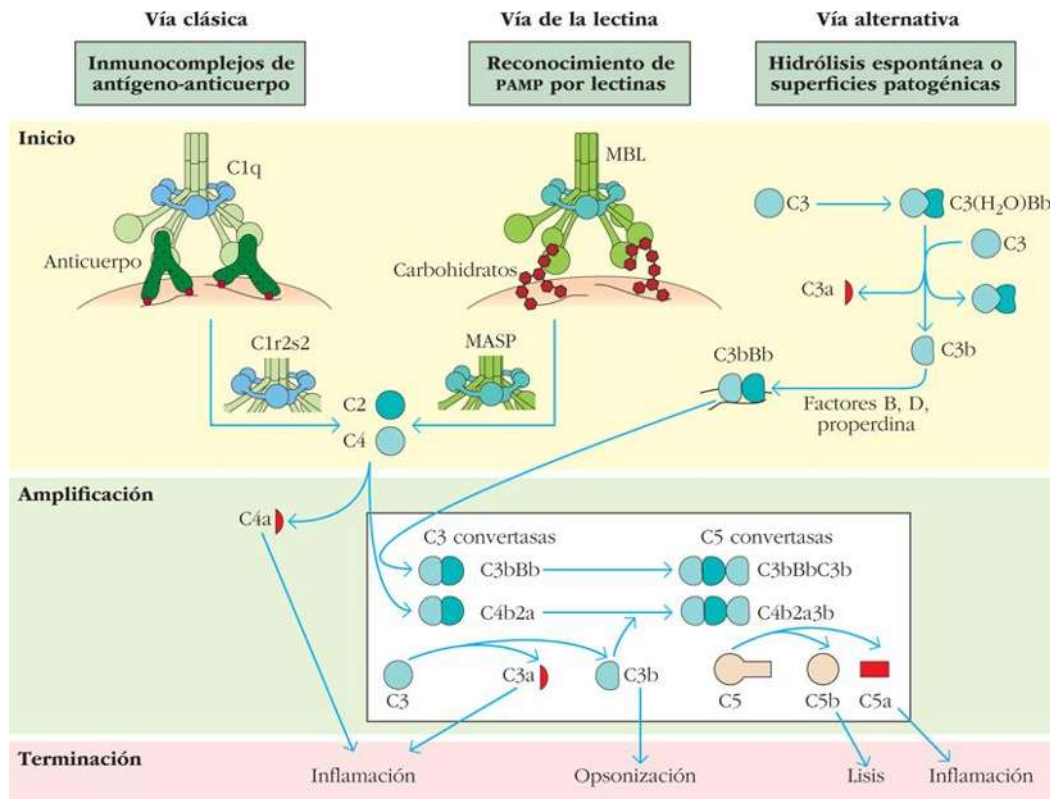


Figura 6. Vías de activación del sistema de complemento: vía clásica, vía alterna y vía de la lectina. Tomada de Kuby. *Inmunología*.

Por otro lado, una de las funciones más representativas del proceso inflamatorio es el aporte de leucocitos al foco inflamatorio, ya que estos se encargan de fagocitar a los patógenos, destruir a los microorganismos y degradar el tejido necrótico, aunque también pueden prolongar la lesión tisular al liberar enzimas, mediadores químicos y especies reactivas de oxígeno, esto mediante una serie de eventos que abarcan desde que los leucocitos salen de la luz vascular hasta su extravasación (Figura 7), dividiéndose en (León et al., 2016):

- **Marginación**, en donde se produce el desplazamiento de los leucocitos a las paredes de los vasos, debido al incremento de la permeabilidad vascular.
- **Rodamiento y Adhesión**, donde se adhieren al endotelio primero de forma transitoria, hasta adherirse firmemente y quedar revestido de leucocitos.
- **Diapédesis**, una vez que atraviesan la membrana basal, salen al espacio extravascular,
- **Migración (transmigración)** de los leucocitos a partir de los tejidos intersticiales hacia un estímulo quimiotáctico.

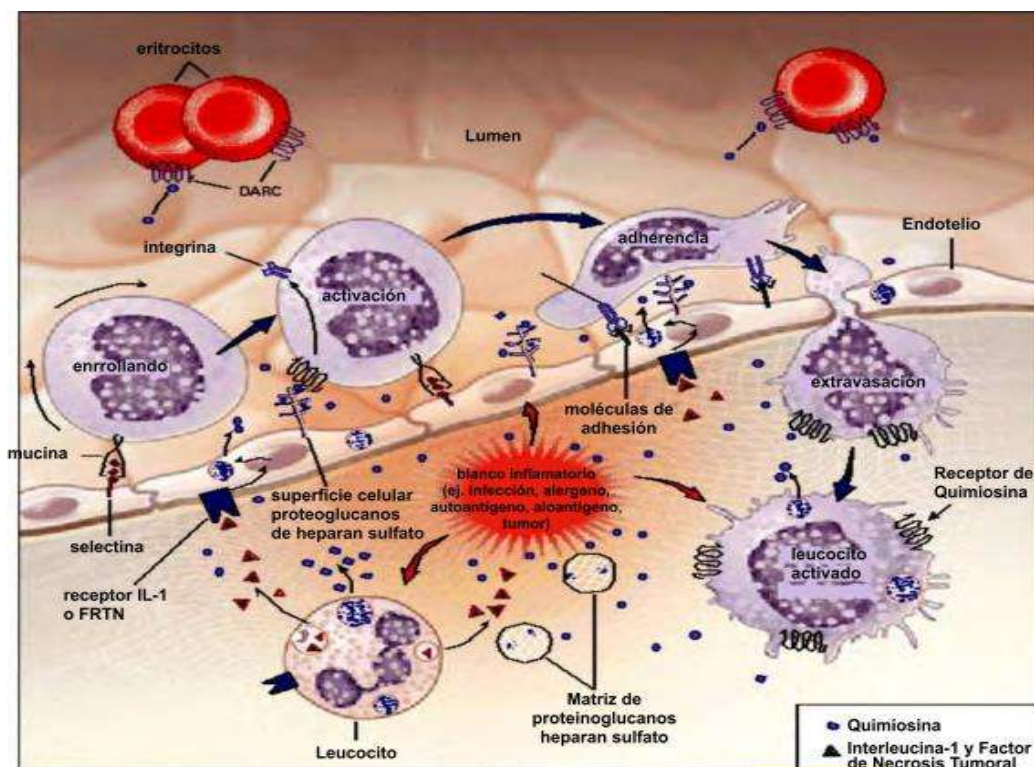


Figura 7. Movimiento leucocitario regulado por quimiocinas. Tomada de *Rol de quimiocinas y sus receptores en la inflamación*. Lezama 2006.

1.3.4. Moléculas de adhesión

Tanto la adhesión y trans migración se encuentran determinadas por la fijación de *moléculas de adhesión complementarias* a la superficie de los leucocitos y endotelioцитos, quienes determinan el contacto entre varios grupos celulares y la relación entre algunas células y la matriz extracelular, actuando además como señales que contribuyen directamente a la activación celular y, tanto algunos mediadores quimiotácticos como algunas citocinas influyen en estos procesos, regulando la expresión de superficie y la intensidad de fijación de las mismas (Tabla 3). De acuerdo con su estructura y características funcionales se pueden agrupar como: selectinas, que son moléculas que tienen afinidad por estructuras de carbohidratos de las membranas de otras células poseedoras de dominios de lectina tipo C en la región extracelular de la molécula, expresándose posterior al inicio de la activación del endotelio, y desencadenando el proceso de rodamiento, siendo las más destacadas: *L-selectina*, que se une a moléculas del endotelio venular alto, denominadas adresinas, facilitando el reclutamiento de leucocitos, *P-selectina*, expresada en plaquetas y endotelioцитos, se une a carbohidratos que contienen ácido siálico, y *E-selectina*, que se expresa de manera más tardía dado que su síntesis es activa, y que al igual que la E-selectina, tiene afinidad por estructuras del tipo Sialil-Lewis siendo altamente eficiente para el reclutamiento de neutrófilos; integrinas, que son glicoproteínas con dominios extracelulares, transmembranales e intracelulares, que permiten la comunicación entre el

interior y el exterior de las células, siendo algunas capaces de conectarse directamente con el citoesqueleto, permitiendo la unión célula-célula y célula-matriz extracelular, siendo las más importantes: *antígeno asociado a función linfocitaria 1* (LFA-1), expresada en neutrófilos, monocitos y células T, el promueve la unión de leucocitos en el endotelio mediante su unión a la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) expresada en células endoteliales activadas, el *antígeno de expresión muy tardía* (VLA-4), expresada en monocitos y linfocitos T unido a la *molécula de adhesión celular 1* (VCAM-1) y el *antígeno de macrófagos 1* (MAC-1), expresado por monocitos y células dendríticas y se une a ICAM-1, además de unirse a fragmentos del complemento y contribuyendo en la opsonización y fagocitosis de microorganismos; y las inmunoglobulinas o anticuerpos, como la ICAM-1 y VCAM-1 (García, 2008; Vergara et al., 1994).

Principales moléculas de adhesión involucradas en la respuesta inflamatoria	
Células endoteliales activadas	Especificidad de unión
P- selectina	Antígeno Sialil-Lewis ^x unido a proteínas, como PSGL-1, presentes en neutrófilos y monocitos.
E- Selectina	Antígeno Sialil-Lewis ^x unido a proteínas presentes en neutrófilos y monocitos.
ICAM -1	LFA-1, presente en neutrófilos, monocitos y linfocitos T, y MAC-1, presente en monocitos y células dendríticas.
VCAM-1	VLA-4, presente en linfocitos y macrófagos y a4P7 presente en monocitos y linfocitos T.
Neutrófilos	
LFA-1	ICAM-1, presente en células endoteliales activadas.
Monocitos	
LFA-1	ICAM-1, presente en células endoteliales activadas.
VLA-4	VCAM-1, presente en células endoteliales activadas.
MAC-1	ICAM-1, presente en células endoteliales activadas y productos de degradación del complemento.

Tabla 3. Principales moléculas de adhesión. Tomada de Inmunología molecular, celular y traslacional. Pavón, Jiménez & Garcés, 2016.

1.4. Reacciones de hipersensibilidad

Las reacciones de hipersensibilidad son procesos patológicos que se generan debido a la excesiva o inadecuada respuesta inmunitaria hacia moléculas habitualmente inocuas, como resultado de la interacción entre antígenos (alérgenos) y anticuerpos, o linfocitos sensibilizados, que desencadena señales responsables de una inflamación tisular (Cuevas & Cuevas, 2012).

En personas sensibles, los antígenos pueden desencadenar una respuesta inmunológica exagerada con manifestaciones clínicas que pueden agravarse en exposiciones posteriores y, de no ser tratadas, pueden llegar a estados críticos e incluso la muerte. Por el contrario, en estados fisiológicos normales, estas sustancias son toleradas (González, 2014). El potencial inmunógeno de los antígenos depende del tamaño que tengan: por ejemplo, aquellos antígenos con un peso molecular bajo (menor a 1000 Daltons) denominados *haptenos*, son incapaces tener un efecto inmunológico por sí mismos, por lo que requieren unirse covalentemente a una proteína de transporte o “carrier” (endógena o exógena) para ser reconocida como antígeno y llevar a cabo una respuesta inmunológica (Kanji & Chant, 2010).

Por otra parte, las reacciones de hipersensibilidad fueron clasificadas originalmente por los científicos británicos Gell y Coombs en cuatro grupos, de acuerdo con la respuesta inmunológica y el mecanismo efector responsable del daño celular y tisular: hipersensibilidad de tipo I o inmediata, mediada por IgE y linfocitos Th2, de tipo II o citotóxica, mediada por IgG e IgM, de tipo III, mediada por inmunocomplejos IgG e IgM, y de tipo IV o retardada, mediada por células T (Uzzaman & Cho, 2012). No obstante, en 2010, W.J Pichler y col. ampliaron la clasificación propuesta por Gell y Coombs, basándose en las observaciones clínico-patológicas asociadas a reacciones adversas producidas por fármacos, dividiendo a la hipersensibilidad retardada en: IVa, IVb, IVc y IVd (Figura 8) (Pichler et al., 2010).

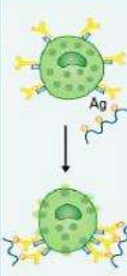
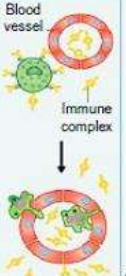
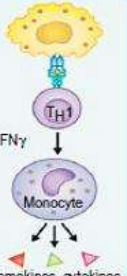
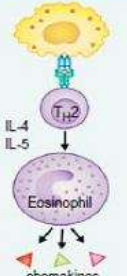
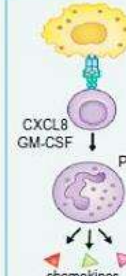
	Type I	Type II	Type III	Type IVa	Type IVb	Type IVc	Type IVd
Immune reactant	IgE	IgG	IgG	IFN γ , TNF α (T $_H$ 1 cells)	IL-5, IL-4/IL-13 (T $_H$ 2 cells)	Perforin/ GranzymeB (CTL)	CXCL-8, GM-CSF (IL-17) (T cells)
Antigen	Soluble antigen	Cell or matrix-associated antigen	Soluble antigen	Antigen presented by cells or direct T-cell stimulation	Antigen presented by cells or direct T-cell stimulation	Cell-associated antigen or direct T-cell stimulation	Soluble antigen presented by cells or direct T-cell stimulation
Effector	Mast-cell activation	FcR $^+$ cells (phagocytes, NK cells)	FcR $^+$ cells Complement	Macrophage activation	Eosinophils	T cells	Neutrophils
							
Example of hypersensitivity reaction	Anaphylaxis, allergic rhinitis, asthma (with IVb)	Hemolytic anaemia, thrombocytopenia	Serum sickness, Arthus reaction	Tuberculin reaction, contact dermatitis (with IVc)	Maculopapular exanthema with eosinophilia, chronic asthma, allergic rhinitis	Contact dermatitis, maculopapular and bullous exanthem, hepatitis	AGEP, Behçet disease, psoriasis

Figura 8. Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad propuesta por Gell y Coombs, y ampliada por W.J. Pichler. Tomada de <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/micobacteriosis/descargas/pdf/TbSensibilizacion.pdf>. Consultado el 19 de octubre de 2019.

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo I, también denominadas de tipo inmediata, ocurren al poco tiempo de exponer a un individuo previamente sensibilizado con el antígeno, en las se producen anticuerpos IgE específicos que se fijan a receptores de membrana de mastocitos y basófilos, los cuales al unirse a antígenos ambientales (como pólenes, epitelios y pelos de animal, ácaros), algunos alimentos, ciertos fármacos, etcétera, activan a dichas células e inducen su degranulación, permitiendo la liberación de mediadores y, por consiguiente, generando una respuesta alérgica (J. G. Romero et al., 2007; Uzzaman & Cho, 2012).

El mecanismo de acción que se produce en la hipersensibilidad inmediata se divide en dos fases: una fase de sensibilización y una fase de desencadenamiento. En la fase de sensibilización, el antígeno una vez ingresado al organismo de hospedero (por vía cutánea, vía respiratoria o por el tracto gastrointestinal) es captado por las células dendríticas, quienes procesan los antígenos en su interior y presentan los péptidos derivados del alérgeno en una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC II) a un linfocito T inactivo, el cual se diferencia en linfocitos Th2 y produce a su vez varias citocinas, como la IL-4, IL-5 e IL-13, responsables del reconocimiento del antígeno por parte de las células B, y realizan un cambio en el isotipo de cadenas pesadas de las inmunoglobulinas que secretan, produciendo IgE. Una vez sintetizada, la IgE se une rápidamente a los Fc ϵ R1,

ubicados en la superficie de mastocitos tisulares y basófilos, para en un contacto posterior con el antígeno actuar como su receptor y que las células efectoras puedan desencadenar una respuesta inmune al mismo. No obstante, en la fase de desencadenamiento, tras la re exposición del individuo al antígeno, el antígeno se une a la IgE fijadas a los mastocitos tisulares y basófilos, provocando su activación y degranulación, liberando así mediadores preformados y sintetizados *de novo* que inducen a la vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar, espasmo del músculo liso e infiltración de eosinófilos y otras células inflamatorias por acción de citocinas sintetizadas *de novo* (IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 y factores de crecimiento), responsables de la sintomatología y por consiguiente, de la respuesta alérgica (Figura 9) (Rodríguez et al., 2015; J. G. Romero et al., 2007).

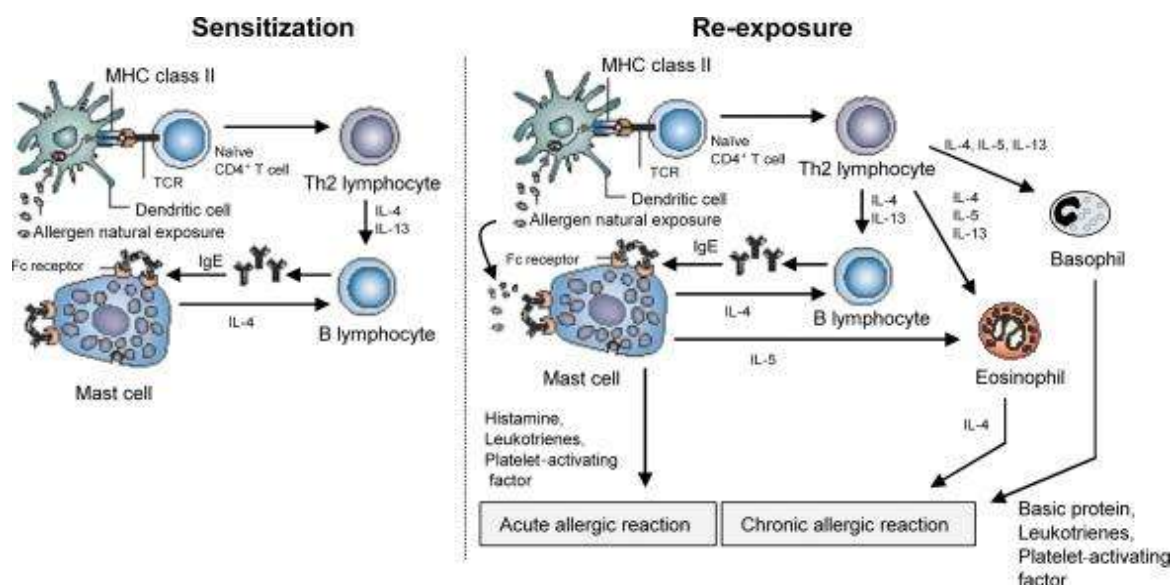


Figura 9. Mecanismo de reacción de hipersensibilidad de tipo I. Tomada de Allergen-specific subcutaneous immunotherapy in allergic asthma: Immunologic mechanisms and improvement. Taher et.al. Libyan Journal of Medicine.

La hipersensibilidad inmediata puede desarrollarse de forma sistémica, es decir, puede producirse debido a la inyección o a la ingestión de un antígeno en un sujeto sensibilizado, o bien puede producirse de manera local, en donde la reacción generada por el antígeno puede variar de acuerdo con la vía de ingreso del mismo al hospedero: mediante inhalación, ya que únicamente provoca la llamada rinitis alérgica, ingestión de medicamentos como los beta-lactámicos o alimentos como algunas frutas, frutos secos y mariscos, vía intravenosa de ciertos fármacos, picaduras de himenópteros, entre otros, y vía subcutánea, empleado durante la realización de pruebas diagnósticas de sensibilización (Rodríguez Vázquez, 2015).

Por otra parte, las reacciones de hipersensibilidad de tipo II se llevan a cabo debido a la interacción entre anticuerpos de tipo IgG e IgM preformados con antígenos presentes en la

superficie de células diana o auto anticuerpos, o frente a antígenos exógenos, como sustancias químicas o proteínas microbianas, que se unen a la superficie celular o a la matriz tisular, en los que se pueden generar diversos fenómenos: opsonización y fagocitosis de las células que expresan receptores para las porciones Fc, activación y quimiotaxis de neutrófilos y macrófagos que provoquen lesión tisular, o bien, actividad citotóxica por parte de las células NK (González, 2014).

Existen tres mecanismos efectores de este tipo de reacción: reacción dependiente del complemento, reacción de hipersensibilidad anti receptor y citotoxicidad dependiente de anticuerpos. En la reacción dependiente del complemento, cuando el anticuerpo IgG o IgM reacciona con el antígeno presente en la superficie celular, activa el sistema de complemento por vía clásica, produciéndose fragmentos opsonizantes (C3b y C4b) que se depositan en la superficie de las células y reconocen a los fagocitos con receptores específicos para estas proteínas, produciendo fagocitosis. No obstante, cuando se depositan anticuerpos en las membranas basales y la matriz extracelular, estos activan el complemento, generando sustancias quimiotácticas, y fragmentos proinflamatorios (C3a y C5a) que regulan la vasodilatación e incrementan la permeabilidad capilar de forma directa. Tanto los fragmentos Fc de las inmunoglobulinas como los productos de la activación del complemento son reconocidos por receptores específicos en la superficie de macrófagos y neutrófilos, lo que llevará a su activación y degranulación, dando lugar a la producción de otras sustancias como enzimas lisosómicas, incluidas proteasas y especies reactivas del oxígeno liberadas al medio, induciendo a la lisis celular. Por otro lado, en la reacción de hipersensibilidad anti receptor los anticuerpos son dirigidos hacia los receptores de la superficie celular, lo que conlleva a su alteración o bien, modificar su función. En La citotoxicidad dependiente de anticuerpos, los anticuerpos citotóxicos actúan como mediadores unidos a su antígeno tisular, donde las células efectoras (pueden ser linfocitos, macrófagos o células NK), se unen a la célula diana mediante sus receptores específicos para el fragmento Fc de las IgG, produciendo lisis celular sin fagocitosis (Figura 10) (Pichler et al., 2010; J. G. Romero et al., 2007).

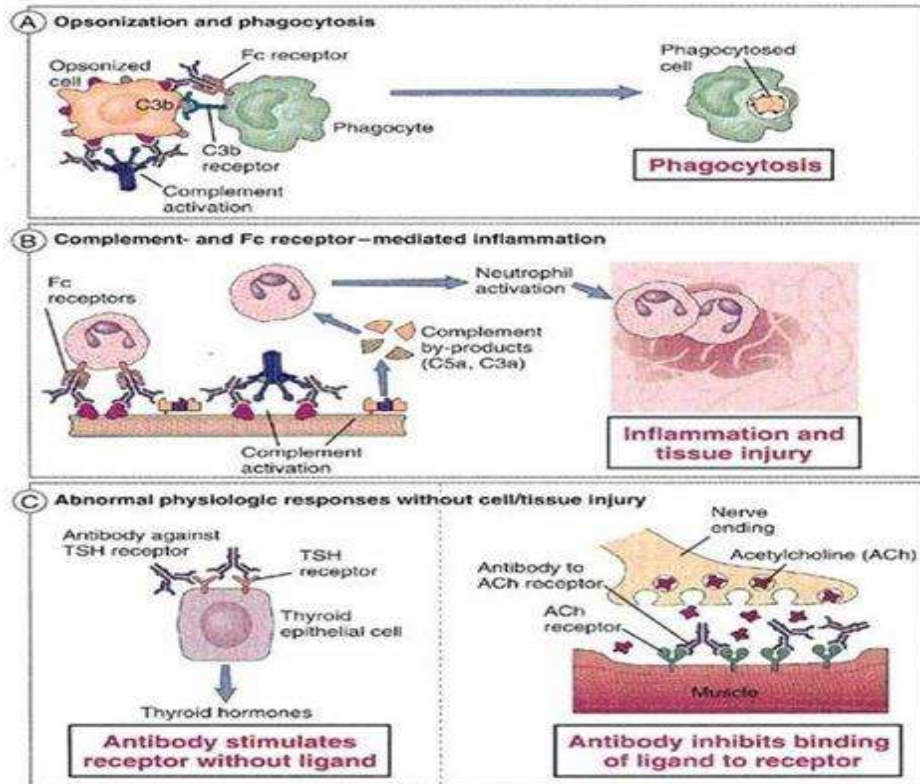


Figura 10. Reacciones de hipersensibilidad de tipo II. Tomada de <https://epidemiologiamolecular.com/hsii-reacciones-hipersensibilidad-tipo-ii/>. Consultado el 22 de octubre de 2019.

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo III por su parte, se caracterizan por la formación de inmunocomplejos entre IgG o IgM con un antígeno específico, el cual deberá ser abundante, o bien, presentarse de forma soluble, los cuales estarán en la circulación hasta depositarse en el endotelio, activando así las cascadas de la coagulación y el sistema de complemento de manera similar al mecanismo generado en la hipersensibilidad de tipo II, permitiendo la liberación de enzimas, mediadores lipídicos y citoquinas responsables de generar daño en el tejido vascular (Figura 11) (González, 2014; Salinas, 2012).

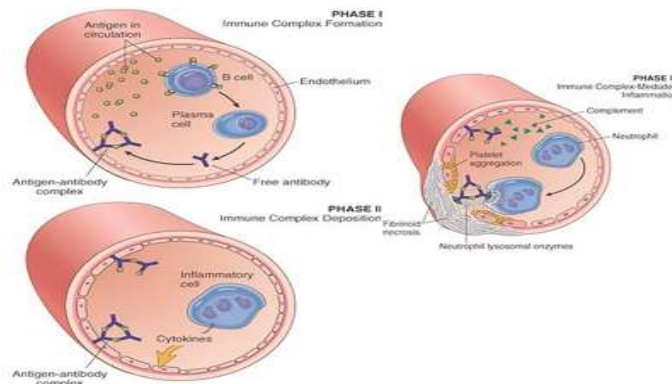


Figura 11. Fases del mecanismo de la hipersensibilidad tipo III. Tomada de <https://epidemiologiamolecular.com/hsii-reacciones-hipersensibilidad-tipo-iii/>. Consultado el 22 de octubre de 2019.

Por otra parte, las reacciones de hipersensibilidad de tipo IV (también denominadas reacciones de tipo retardada, por su expresión en un periodo de 48 a 72 horas) se caracterizan porque son mediadas por linfocitos T en respuesta a un antígeno frente al encontraban sensibilizados, liberando citocinas responsables de producir inflamación local, y por el infiltrado inflamatorio predominantemente por células mononucleares (Pichler et al., 2010)

Al igual que en la hipersensibilidad de tipo I, el mecanismo de la hipersensibilidad de tipo IV, de manera general, comprende dos fases: una fase de sensibilización, en donde el antígeno ingresa al organismo por primera vez y éste es captado por las células presentadoras de antígeno, quienes lo procesan y presentan a los linfocitos T vírgenes mediante el MHC II, induciendo a su diferenciación en células de tipo Th1, quienes liberan citocinas importantes para el desarrollo de la hipersensibilidad, y permitiendo además que se generen células Th1 de memoria, responsables de generar cuadro clínico durante la fase de desencadenamiento. No obstante, en la fase de desencadenamiento, al exponerse nuevamente el hospedero al antígeno en cuestión, se induce a la activación de las células T de memoria, que secretan citocinas responsables de llevar a cabo una respuesta inmunológica de tipo inflamatoria (Kumar, Abbas & Aster, 2015).

Como se mencionó anteriormente, la clasificación propuesta por Gell y Coombs describe únicamente 4 tipos de reacciones de hipersensibilidad, tomando en cuenta los mecanismos de acción de las mismas, así como la sintomatología clínica que éstas expresan. W.J. Pichler & S.J. Posadas, en su estudio sobre las reacciones de hipersensibilidad retardada producidas por fármacos, observaron que en ellas se involucraban diversos tipos de células T específicos que, al infiltrarse en los tejidos causaban daño tisular, y además liberaban diversas citocinas capaces de mediar diferentes procesos inflamatorios. Asimismo, observaron que dichos procesos se relacionaban con otros padecimientos e incluso, podían interrelacionarse entre ellos, por lo que ampliaron la hipersensibilidad de tipo IV en cuatro subtipos: hipersensibilidad de tipo IVa, IVb, IVc y IVd (Posadas & Pichler, 2007).

Hipersensibilidad de tipo IVa

En este tipo de reacciones se lleva a cabo la activación de linfocitos T en células Th1 secretoras de IFN- γ , citocina responsable de la activación de macrófagos, que induce a la producción de anticuerpos para la fijación del complemento, coestimulando a la respuesta inflamatoria, así como de TNF- α , responsable de la activación de linfocitos TCD8+ con actividad citotóxica (Adam et al., 2011; Uzzaman & Cho, 2012).

Hipersensibilidad de tipo IVb

Este tipo de respuesta se caracteriza por la activación de linfocitos T en células Th2 que, al igual que en las reacciones de hipersensibilidad de tipo I, secretan citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, promotoras de la producción de anticuerpos IgE, además de IgG4 por parte de las células B, así como a la desactivación de macrófagos y a la activación y respuesta por parte de los mastocitos y eosinófilos (Adam et al., 2011).

Hipersensibilidad de tipo IVc

Este tipo de hipersensibilidad consiste en la activación de linfocitos T en células Tc, las cuales emigran hacia el tejido dañado (generalmente hepatocitos y queratinocitos), y presentan actividad citotóxica, ya sea mediante la secreción de perforina y granzima B y/o FasL-dependiente (Uzzaman & Cho, 2012).

Hipersensibilidad de tipo IVd

Este tipo de reacciones se basa en la activación de linfocitos T en linfocitos Th17 que secretan quimiocina CX-CL8 para atraer neutrófilos al sitio de daño y citocinas GM-CSF, responsable de prevenir su apoptosis. Además de IL-17 e IL-22, responsables de la activación de IL-8, que a su vez coordina la acumulación de los neutrófilos en el sitio de lesión (Adam et al., 2011).

1.5. Dermatitis por contacto

Una de las enfermedades más comunes en las que se involucra el proceso inflamatorio es la dermatitis por contacto (DC), que se define como el daño producido en el estrato córneo debido al contacto con agentes externos, que produce una reacción inflamatoria aguda o crónica, los cuales pueden ser físicos o químicos, que dan lugar a una reacción no inmunológica o dermatitis por contacto irritativa (DCI), o bien, debido a la susceptibilidad de ciertos individuos expuestos previamente a un alérgeno o un xenobiótico, desencadenando una respuesta inmunológica, como ocurre en la dermatitis por contacto alérgica (DCA), o bien, producirse ambas (Johansen et al., 2015; Tan et al., 2014).

La DC es considerada como una de las patologías más estudiadas por el área clínica debido a su alta prevalencia a nivel mundial representando un problema de salud sumamente frecuente, ya que muchos de los agentes capaces de producir DC se encuentran en una amplia variedad de productos de uso común, haciendo constante la exposición a los mismos, convirtiendo a la DC en la segunda causa más común de consulta dermatológica. No obstante, la predisposición de los individuos a presentar DC puede ser generada por diversos factores relacionados directamente con el individuo, tales como la edad, el sexo, la topografía, atopia, e incluso genéticos, o bien, pueden también ser de tipo ambiental, como la temperatura y la humedad, favoreciendo así la penetración de sustancias irritantes y alérgenos (I. C. Gómez et al., 2017)

Se estima que, de todos los casos reportados de DC, el 80% corresponden a DCI, mientras que el 20% restante corresponden a DCA, sobre todo durante la práctica clínica. Sin embargo, en países como Estados Unidos se ha reportado que alrededor del 60% de los casos de pacientes con DC corresponden a DCA y alrededor del 30% a DCI, sobre todo en el campo la principal causa de DC lo cual concluye que este padecimiento es considerado de tipo ocupacional. En Singapur, en un estudio de un total de 557 pacientes con dermatosis ocupacional 55.7% presentaban DCI, 38.6% DCA y 5.7% no presentaban dermatitis. En Dinamarca, entre 1984 y 1991 ocupó el tercer lugar con 16% de casos. Asimismo, en Suecia, se ha reportado que entre el 4 y 7% de las consultas dermatológicas por dermatosis fueron debido a DCA, de las cuales la prevalencia en adolescentes fue de alrededor del 15%, mientras que en adultos fue de alrededor del 18%. (Alonzo & Rodríguez, 1999; Kostner et al., 2017).

Gracias a los avances de la biomedicina ha sido posible profundizar el estudio de las dermatosis mencionadas anteriormente, haciendo mayor énfasis en las DCA debido a los mecanismos inmunológicos poco conocidos que se encuentran involucrados en la misma, permitiendo así establecer las mejores alternativas para su manejo. DCA corresponde a una hipersensibilidad de tipo retardada (IVa y IVc) hacia un agente exógeno de carácter hapténico, por lo que requiere de la unión del mismo con una molécula o proteína *carrier* para llevar a cabo su actividad inmunológica, siendo visible en individuos previamente sensibilizados tras las 24-72 horas posteriores al contacto con el alérgeno. Clínicamente, se manifiesta como una inflamación epicutánea con prurito intenso, sensación de quemazón y dolor, erupciones e hinchazón en el área afectada y, en casos más graves, se lleva a cabo la formación de vesículas que revientan rápidamente (Figura 12) (Colbeck et al., 2013; C. B. López et al., 1998).



Figura 12. Extremidad de un infante con dermatitis de contacto eccematosa. Tomada de <https://encolombia.com/medicina/guiasmed/dermatitis/dermatitis-contacto/>. Consultado el 2 de noviembre de 2019.

Son múltiples los agentes causales de DCA entre los que se pueden encontrar algunos metales como el níquel, presente en relojes y artículos de joyería y bisutería, el cromo y el cadmio presentes en materiales para la construcción, algunos productos químicos como el formaldehído, oxazolona y dinitrofluorobenceno (DNFB), entre otros (Büdinger & Hertl, 2000; Latorre et al., 2011; L. A. Romero, 2003). No obstante, ciertas plantas secretan oleorresinas que utilizan como mecanismo de defensa ante patógenos y animales herbívoros, y que en humanos producen dermatitis por contacto o fitodermatitis. Tal es el caso del urushiol (del japonés *urishi*) que es una oleorresina producto del metabolismo secundario de ciertas plantas del género *Toxicodendron*, principalmente en la planta *Toxicodendron radicans*, que consiste en una mezcla de ortobencenodiolos alquilados o catecoles con cadena lateral alquilo hidrofóbica en el carbono 3, saturados o insaturados, generalmente de 15 o 17 carbonos del cual se ha demostrado que mientras más larga e insaturada sea, su inmunogenicidad será mayor (Dunn et al., 1982; Moreno, 2008).

El urushiol fue caracterizado por primera vez en 1934 por Hill y colaboradores, quienes demostraron que el principio activo secretado por *T. radicans* al cual denominaron *toxicodendrol*, estableciendo además que era el mismo secretado por el árbol de laca japonesa, *Toxicodendron vernicifluum*, aislado por Majima en 1922, así como al *lobinol* reportado por McNair en 1923 (Stratton, 1939).

En su forma oxidada, se le conoce como orto-quinona, que actúa como hapteno pro-electrofilico, manipulando los receptores de proteínas de membrana de los queratinocitos (Figura 13), y al entrar en contacto con la piel es reconocido por las células dendríticas, quienes llevan la información a los linfocitos T *naïve*, quienes a su vez, al ser activados producen una respuesta inmunológica mediada por linfocitos Th2, responsables de liberar citocinas proinflamatorias y predominantemente linfocitos T citotóxicos, responsables de producir necrosis a los queratinocitos (Patel & Rauf, 2018).

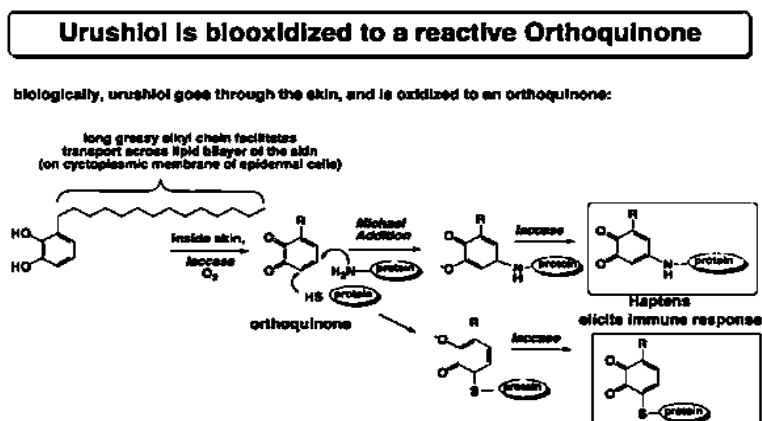


Figura 13. Mecanismo de oxidación del urushiol. Tomada de *Deactivation of urushiol and method of treatment and prevention of contact dermatitis*. Braslau, Rebecca. Santa Cruz, California. USA. PCT/US13A391.62.

1.6. Antiinflamatorios esteroideos: glucocorticoides

Los glucocorticoides son un grupo de fármacos de uso más común en la medicina moderna (llamado así debido a su participación en la producción de glucosa mediante gluconeogénesis) debido a su efecto antiinflamatorio, siendo utilizadas principalmente en el tratamiento de patologías crónico-degenerativas como la artritis reumatoide, osteoartritis y lupus eritematoso sistémico, entre otras. Son compuestos derivados de la hormona cortisol o hidrocortisona (17-hidroxi-11-dehidrocorticosterona), sintetizadas principalmente en la zona fascicular de la corteza adrenal y en menor cantidad en la zona reticular de las glándulas suprarrenales, como producto del metabolismo del colesterol proveniente principalmente de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) del plasma circulante a nivel de mitocondria y retículo endoplásmico liso (Figura 14), y secretados de forma controlada por el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal mediante el estímulo generado por la hormona corticotropina (ACTH) (Hall, 2016; Serra, Roganovich, & Rizzo, 2012).

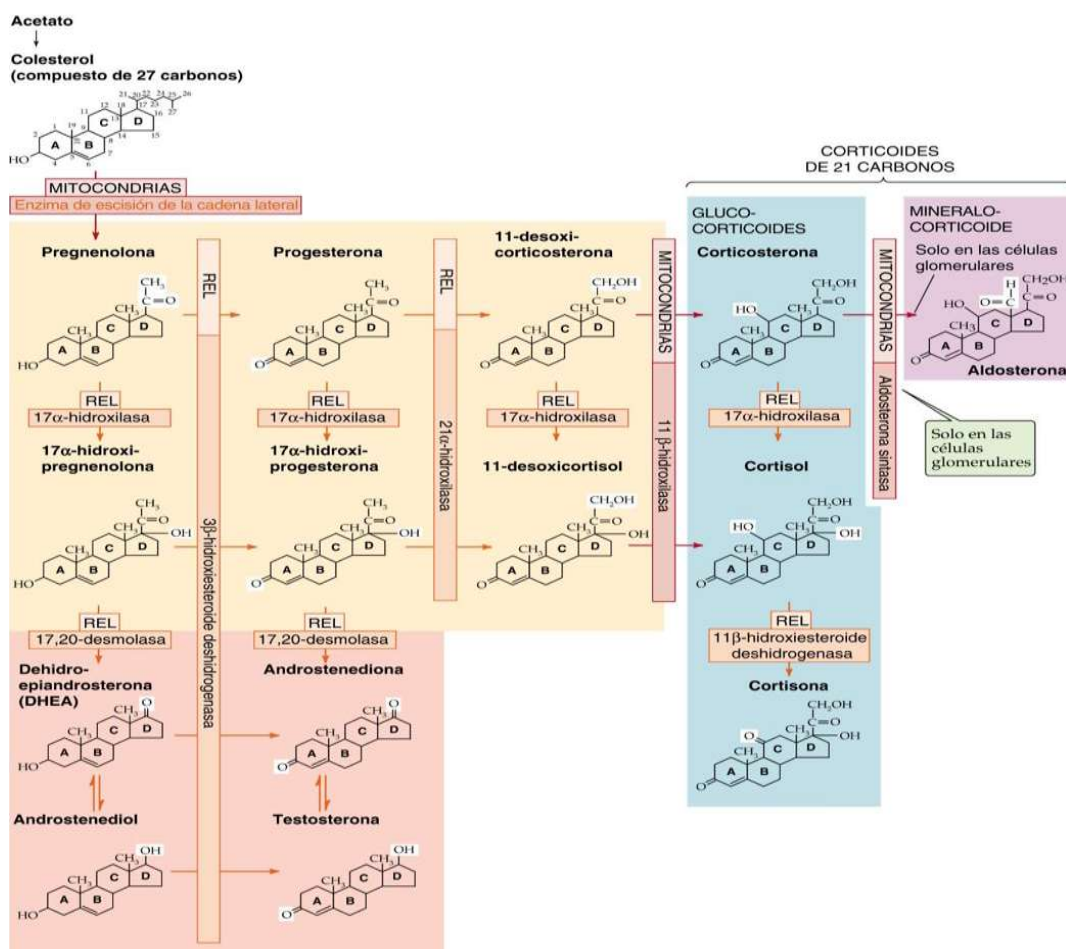


Figura 14. Biosíntesis de esteroides suprarrenales. Tomado de *Fisiología Médica* de Borón.

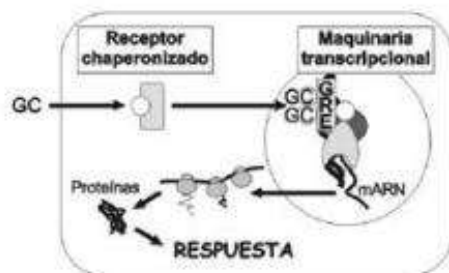
Debido a su estructura lipofílica, los glucocorticoides atraviesan fácilmente la bicapa lipídica de la membrana celular mediante difusión simple, para unirse a proteínas receptoras glucocorticoides intracitoplasmáticas específicas (RG α) en tejidos diana, que sufren un cambio conformacional para su activación y se traslada al núcleo para llevar a cabo su actividad antiinflamatoria correspondiente a través de dos vías: un mecanismo de acción genómico que interfiere directamente con la activación de los factores de transcripción STAT, AP-1 y NF- κ B, que durante un proceso inflamatorio se encuentran unidos a moléculas coactivadoras CBP o p300 con actividad intrínseca de histona acetiltransferasa (HAT), activando y desplegando a la cromatina para producir una mayor transcripción de genes inflamatorios, así como los factores para maduración leucocitaria, por lo que al activarse RG α las histonas son desacetiladas mediante su unión con CBP, desacetilando la cromatina nuclear y haciéndola inaccesible a los factores de transcripción ya mencionados, inhibiendo la transcripción de genes proinflamatorios (Tabla 4). Por otro lado, el mecanismo no genómico induce a la activación de cascadas de señalización intracelular que involucran a la disminución de la maduración leucocitaria así como su interferencia en el metabolismo de ácido araquidónico para la producción de eicosanoides proinflamatorios, e inhibiendo de la activación del endotelio vascular, lo que explicaría su eficacia como antiinflamatorios en comparación con los antiinflamatorios no esteroideos (Figura 15) (Cosío et al., 2005; Rodríguez & Espinosa, 2016).

Incremento de la transcripción genética	Disminución de la transcripción genética
• Lipocortina 1 • Receptores β2 SLPI • Proteína de células claras (CC10, inhibidor de la cPLA2) • Antagonista del receptor de la IL-1 $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$ • IL-10	• Citocinas IL-1 a IL-8, IL-11, IL-13, TNF-α, GM-CSF • Quimiocinas RANTES, eotaxina, MIP-1α, CCL2 y CCL7 • Enzimas iNOS, COX-2, cPLA2 • Moléculas de adhesión CAM-1, VCAM-1 • Receptores de la IL-2, NK-1

Tabla 4. Efecto de los glucocorticoides sobre la transcripción génica. Tomada de *Mecanismos Moleculares de los Glucocorticoides*. Cosío et.al. 2005.

Mecanismo de acción

A- mecanismo genómico clásico



B- mecanismos antiinflamatorios

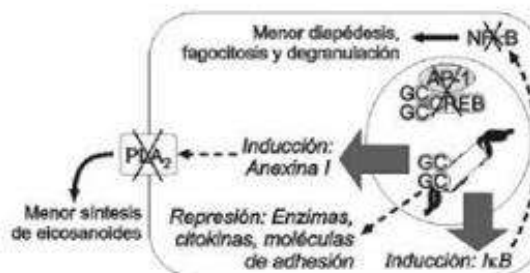


Figura 15. Mecanismo de acción de los glucocorticoides por vía genómica, donde el glucocorticoide une a su receptor y sufre traslocación al núcleo, permitiendo la expresión o represión de múltiples genes vinculados a la inflamación, como enzimas, moléculas de adhesión e incluso citocinas proinflamatorias dando lugar al

mecanismo no genómico. *Tomado de Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. Serra et.al. 2012. Revista Medicina.*

Por otra parte, el manejo de glucocorticoides en la práctica clínica no se limita únicamente a enfermedades reumatológicas, sino que también son utilizados en dermatología para el tratamiento de procesos inflamatorios implicados en enfermedades no infecciosas como dermatitis por contacto alérgica, por lo que la OMS clasificó a los glucocorticoides tópicos de acuerdo a su potencia en cuatro grupos, situando a los primeros grupos como los de mayor potencia y a los últimos grupos como corticosteroides de baja potencia, tal como se aprecia en la Tabla 5 (World Health Organization, 1997).

Potencia	Clase	Corticosteroide tópico	Formulación
Ultra elevada	I	Propionato de clobetasol	Crema al 0,05%
		Diacetato de diflorasona	Pomada al 0,05%
Elevada	II	Amcinonida	Pomada al 0,1%
		Dipropionato de betametasona	Pomada al 0,05%
		Desoximetasona	Crema o pomada al 0,025%
		Fluocinonida	Crema, pomada o gel al 0,05%
		Halcinonida	Crema al 0,1%
Moderada	III	Dipropionato de betametasona	Crema al 0,05%
		Valerato de betametasona	Pomada al 0,1%
		Diacetato de diflorasona	Crema al 0,05%
		Acetónido de triamcinolona	Pomada al 0,1%
	IV	Desoximetasona	Crema al 0,05%
		Acetónido de fluocinolona	Pomada al 0,025%
		Fludroxicortida	Pomada al 0,05%
		Valerato de hidrocortisona	Pomada al 0,2%
		Acetónido de triamcinolona	Crema al 0,1%
	V	Dipropionato de betametasona	Loción al 0,02%
		Valerato de betametasona	Crema al 0,1%
		Acetónido de fluocinolona	Crema al 0,025%
		Fludroxicortida	Crema al 0,05%
		Butirato de hidrocortisona	Crema al 0,1%

Escasa		Valerato de hidrocortisona	Crema al 0,2%
		Acetónido de triamcinolona	Loción al 0,1%
	VI	Valerato de betametasona	Loción al 0,05%
		Desonida	Crema al 0,05%
		Acetónido de fluocinolona	Solución al 0,01%
	VII	Fosfato sódico de dexametasona	Crema al 0,1%
		Acetato de hidrocortisona	Crema al 1%
		Acetato de metilprednisolona	Crema al 0,25%

Tabla 5. Clasificación de los glucocorticoides tópicos. Tomada de <https://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Jh2920s/32.html>. Consultado el 8 de noviembre de 2019.

Por otro lado, se ha demostrado que los glucocorticoides son las únicas drogas activas en todas las etapas del metabolismo, que sumado a su mecanismo de acción posee un gran potencial farmacológico; sin embargo, son tiempo-dependientes pues aumentan su intensidad ante exposición prolongada al xenobiótico, independientemente de la vía de administración empleada, siendo susceptibles a múltiples efectos adversos secundarios e incluso colaterales. Entre los más comunes destacan la supresión del funcionamiento fisiológico del eje hipotálamo-hipofisoadrenal, y dependiendo de la duración del tratamiento puede ser rápidamente reactivado (si es inferior a 2 semanas) o puede generar atrofia (si el tratamiento supera las 2 semanas) y el Síndrome de Cushing, causado por las concentraciones elevadas de cortisol circulante como consecuencia del consumo prolongado de glucocorticoides sintéticos, especialmente en individuos que se encuentren bajo tratamiento por enfermedades crónico-degenerativas como el lupus eritematoso sistémico o artritis reumatoide, y en pacientes trasplantados, produciendo cambios en la apariencia facial, incremento de la grasa abdominal, debilidad muscular proximal del dorso, aparición de estrías violáceas en el cuerpo, hirsutismo, oligomenorrea, eventos embólicos, resistencia a la insulina, diabetes, dislipidemia e hipertensión, entre otros (Ferreira et al., 2004; Zuluaga et al., 2017). No obstante, existen otros tejidos por el uso prolongado de estos fármacos son los mencionados en la Tabla 6:

Tejido	Efectos secundarios
Suprarrenal	Supresión de la función fisiológica del eje hipofiso-adrenal, atrofia. Síndrome Cushing.
Sistema inmune	Amplia inmunosupresión. Activación de infecciones latentes.
Metabolismo de carbohidratos	Hiperglucemia. Diabetes mellitus
Gastrointestinal	Sangrado gastrointestinal, pancreatitis, úlcera péptica
Musculoesquelético	Osteoporosis, necrosis ósea, retraso en el crecimiento longitudinal del hueso Atrofia muscular

Cardiovascular	Dislipidemia, HTA Trombosis Vasculitis
Tegumentos	Atrofia cutánea, retraso en la cicatrización de heridas, eritema, hipertricosis, dermatitis perioral, Petequias, acné inducido por corticoides, estrías, telangiectasias
SNC	Cambios en la conducta, aprendizaje, memoria y humor (psicosis). Atrofia cerebral
Ojos	Cataratas, glaucoma, exoftalmos, corioretinopatía central
Riñón	Aumento retención de Na y excreción de K
Reproductivo	Retraso de la pubertad, retraso en el crecimiento fetal, hipogonadismo

Tabla 6. Efectos secundarios específicos en varios tejidos derivados de tratamiento prolongado con altas dosis corticoides. Tomado de *“Manejo de los corticoides en la práctica clínica”*. Galofre, J. (2009). *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*.

2. ANTECEDENTES

2.1. Metabolitos secundarios de plantas con actividad antiinflamatoria

El descubrimiento y desarrollo de fármacos antiinflamatorios a través de la historia de la medicina es considerado como uno de los aportes más importantes, debido a su eficacia para el tratamiento de múltiples padecimientos inflamatorios sin importar si son de tipo agudo o crónico. No obstante, se ha demostrado que dichos fármacos son capaces de producir efectos adversos indeseados, llegando incluso a complicar aún más el estado de salud del paciente que los consume. Un claro ejemplo de ello es el uso de antiinflamatorios de tipo no esteroideo (AINEs) como el acetaminofén y el ácido acetil salicílico, en los que su mecanismo de acción consiste en inhibir la actividad de las enzimas ciclooxigenasa 1 (COX-1) y ciclooxigenasa 2 (COX-2), partícipes en el metabolismo del ácido araquidónico, en los que se ha demostrado que al igual que los antiinflamatorios glucocorticoides, su uso prolongado puede generar efectos adversos, debido a que dichos fármacos no suelen ser selectivos para alguna de las enzimas, por lo que COX-1 siendo enzima constitutiva de múltiples tejidos y responsable del recubrimiento a nivel gástrico, y al ser inhibida facilita la formación de úlceras. Sin embargo, en el caso de los AINEs selectivos para COX-2 como el celecoxib, etoricoxib, valdecoxib, meloxicam, entre otros, utilizados de manera constante por pacientes con enfermedades inflamatorias crónico-degenerativas como la artritis reumatoide y la osteoartritis, pese a que no producen daño intestinal como los AINEs no selectivos, a largo plazo generan problemas cardíacos. No obstante, en los últimos años, los investigadores se han visto en la necesidad de buscar alternativas terapéuticas para el tratamiento de múltiples padecimientos en los que se involucra un proceso inflamatorio con la menor repercusión posible, por lo que se han dado a la tarea de extraer productos naturales a partir de extractos de plantas de uso medicinal que pudieran ser útiles como antiinflamatorios, mediante su evaluación en diferentes modelos farmacológicos tanto *in vivo* como *in vitro* (H. A. Gómez et al., 2011).

2.1.1. Flavonoides

Los flavonoides son una clase de metabolitos aromáticos polifenólicos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, en forma glicósidos o como agliconas libres, formados a partir de los aminoácidos fenilalanina y tirosina, así como de unidades de acetato. Son compuestos de bajo peso molecular que presentan un esqueleto común de difenilpiranos, compuesto por dos anillos fenílicos ligados a un anillo de pirano (Figura 16), que tienen la capacidad de formar o no un tercer anillo y pueden tener al menos tres grupos hidroxilo fenólicos. De manera natural, se encuentran en forma de O-glicósidos donde uno o más grupos hidroxilos del núcleo están unidos a residuos de carbohidratos simples, predominantemente D-glucosa, así como D-galactosa, D-ramnosa y D-xilosa y al ácido D-gucorónico (Martínez et al., 2002).

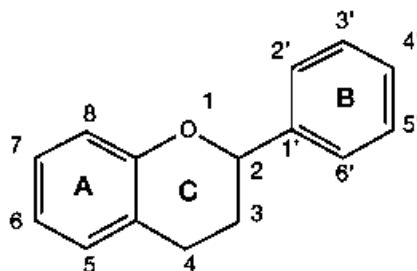


Figura 16. Estructura básica de los flavonoides. Tomada de “Alimentos ricos en procianidinas, alimentación funcional para prevenir la aparición de síndrome metabólico”. Fernández et.al. 2007.

En función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, se clasifican en *antocianinas* (glicósidos con un azúcar unido en posición 3), quienes son consideradas como uno de los grupos más comunes e importantes de pigmentos en las plantas, responsables de proporcionar las tonalidades malva, rosa, violeta y azulada de diversas flores y frutos, como la fresa, el clavel, las manzanas y la uva, comprendiendo hasta el 30 % de su masa seca; *flavonas*, que junto con los *flavonoles* se encuentran ampliamente distribuidos en todos los pigmentos amarillos de las plantas e *isoflavonas*, que *a diferencia de del resto de los flavonoides presentan el anillo B en posición 2, el anillo B ocupa la posición 3*, y se encuentran distribuidas en menor proporción en las plantas, encontrándose mayormente en las leguminosas, y destacándose por su acción como fitoalexinas (Ávalos & Pérez, 2009; Cartaya & Reynaldo, 2001).

Básicamente, las funciones de los flavonoides en las plantas se pueden resumir en tres grupos: actúan como señalizadores químicos de gran utilidad para los insectos, guiándolos hacia el néctar de las plantas, además de actuar como bioindicadores que les permitan reconocer plantas apropiadas para su alimentación, o bien, fungen como estimulantes de la oviposición; protegen a las plantas de múltiples agentes lesivos, como los rayos de luz UV emitidos por el sol, microorganismos bacterianos o fúngicos, insectos, animales herbívoros

e incluso de la polución ambiental; e inhiben gran variedad de enzimas, incluyendo aquellas involucradas en la síntesis de eicosanoides, por lo que se ha considerado su uso en el tratamiento de patologías inflamatorias como la parodontosis y en enfermedades articulares (Enciso & Arroyo, 2011; Treutter, 2006).

2.1.2. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos de bajo peso molecular presentes en aproximadamente el 20% de las especies vegetales y son fisiológicamente activos en el ser humano. Contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula base, sintetizados principalmente a partir de los aminoácidos triptófano, tirosina, histidina, fenilalanina, lisina, arginina y ornitina, o a partir de purinas (Figura 17) (Ávalos & Pérez, 2009; Loyola et al., 2004).

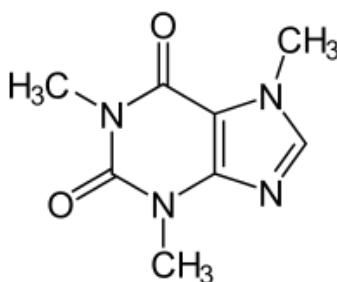


Figura 17. Estructura química de la cafeína. Tomada de <https://es.wikipedia.org/wiki/Alcaloide>. Consultado el 20 de enero de 2020.

Por otra parte, los alcaloides son compuestos que participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como es el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y actúan como quimioatrayentes de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, se induce su síntesis cuando las plantas son expuestas a situaciones de estrés, como la competencia por el espacio de suelo, y los nutrientes con otras especies y la exposición a la luz solar. Además, inhiben el crecimiento de microorganismos bacterianos, virales y fúngicos de carácter patógeno, ya que pueden intercalarse con el DNA, detener la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir a enzimas involucradas en el metabolismo de carbohidratos. Además, juegan un rol toxicológico importante en la defensa de las plantas que los producen ya que, debido a su similitud estructural con diversos neurotransmisores, tienen la capacidad de bloquear neuroreceptores involucrados en la transducción de la señal neuronal y canales iónicos de artrópodos y vertebrados (Loyola et al., 2004; Sepúlveda et al., 2003).

No obstante, en los últimos años se ha demostrado que algunos alcaloides tienen la capacidad de disminuir la producción de citocinas como $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-2 e IL-4 , además de inhibir la síntesis de eicosanoides proinflamatorios, por lo que se les atribuye actividad antiinflamatoria (Guillamón, 2018; Lopes et al., 2011)

2.1.3. Terpenos

Los terpenos constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios existentes, y se les considera como los principales constituyentes de los aceites esenciales y las resinas vegetales. Son moléculas derivadas de se derivan de la fusión de unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno) (Figura 18) y, de acuerdo con las unidades de isopreno que forman, se clasifican en: hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos y tetraterpenos. Su biosíntesis da lugar a la formación de diversos compuestos de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas, entre los que se encuentran fitohormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y esteroides (Castillo, 2007; Villamizar et al., 2010).

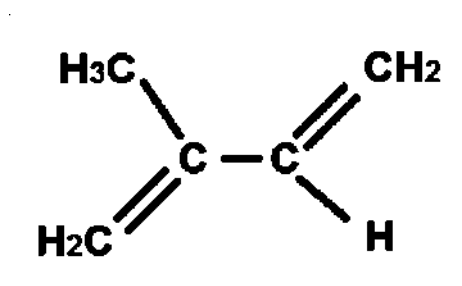


Figura 18. Estructura química del isopreno. Tomada de *"Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud"*. López et.al. 2012.

Son compuestos utilizados como mecanismo de defensa vegetal ante múltiples estímulos: pueden actuar como repelentes a insectos o como señalizadores químicos capaces de atraer especies consideradas como enemigos naturales de especies herbívoras y presentan actividad antibacteriana y antifúngica en presencia de microorganismos patógenos (Sepúlveda et al., 2003). No obstante, existe estudios que demuestran que existen terpenos que inhiben la actividad de múltiples enzimas, entre ellas la fosfolipasa A2 y la 5-lipooxigenasa, involucradas en el metabolismo del ácido araquidónico, por lo que se les atribuye actividad antiinflamatoria (Bonkanka, 2007; N. López et al., 2012).

2.2. Actividad antiinflamatoria de plantas del género *Lobelia*

El género *Lobelia* comprende 365 especies distribuidas principalmente en zonas tropicales y templadas de América, África, Asia, Australia and Europa, y comprenden desde pequeñas hierbas hasta plantas leñosas (denominadas lobelias gigantes). En México se conocen al menos 50 plantas pertenecientes a este género, concentradas en regiones donde se encuentran bosques de coníferas y de encino, descritas por Rzedowski como “plantas herbáceas o arbustivas; hojas alternas o a veces todas basales, de forma diversa, con frecuencia dentadas o serradas, en ocasiones profundamente incisas, otras veces subenteras; flores dispuestas en racimos (a veces compuestos) o solitarias, pronunciadamente zigomorfas, grandes o pequeñas; lóbulos del cáliz iguales o subiguales; corola simpétala, con el tubo largo o corto, con frecuencia dorsalmente fisurado y no pocas veces con dos aberturas laterales en la base ("fenestrado"), en ocasiones provista de un espolón, el limbo por lo general bilabiado, el labio superior bipartido, sus lóbulos casi siempre angostos y erectos, el inferior trilobado o tripartido, sus divisiones usualmente más anchas y abruptamente reflejas; estambres 5, insertos sobre el ápice del hipantio, filamentos distalmente unidos para formar un tubo más o menos largo, en cuyo ápice se distinguen 3 anteras grandes y 2 más pequeñas; ovario ínfero, semi-ínfero, rara vez casi súpero o súpero, bilocular, con numerosos óvulos de placentación axilar, estilo alargado en el interior del tubo estaminal, estigma bilobado; fruto en forma de cápsula, por lo general cubierta en su parte superior por la corola y el androceo marchitos, dehiscente por medio de valvas apicales; semillas numerosas, diminutas, de forma y superficie diversas”(Ruas et al., 2001; J. Rzedowski & Calderón, 1997)

No obstante, debido al uso en la medicina tradicional de algunas especies, existen estudios donde se obtuvieron metabolitos secundarios con actividad biológica relacionada con su uso medicinal. Algunos de ellos son los siguientes:

Stolom y col. llevaron a cabo la caracterización del aceite esencial de hoja de *Lobelia flaccida* mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), donde encontraron la presencia de 25 metabolitos secundarios, de los cuales 23 comprenden el 98%, considerados como predominantes la acetofenona (26.37 %), cariofileno (8.11 %), borneol (7.46 %) and anetol (6.81 %). Además, sometieron al extracto acuoso de hoja de la misma planta a un análisis fitoquímico cualitativo, donde determinaron la presencia de alcaloides, flavonoides, fenoles, fitoesteroles, proteínas, saponinas y taninos, así como a un análisis cuantitativo, donde el porcentaje de alcaloides, saponinas and flavonoides se fue 2.40, 0.14 and 0.40 % respectivamente. Asimismo, evaluaron la actividad antiinflamatoria del extracto, utilizando el modelo de edema plantar inducido por carragenina en ratas, donde observaron una reducción significativa del edema tras la administración vía oral del extracto (dosis de 250-500 mg/kg) previo a la inyección con el agente flogístico (Stolom et al., 2016).

Philopov y col. encontraron 3 nuevos alcaloides piperidínicos a partir de las hojas, tallos y flores de *Lobelia laxiflora* L. costarricense, de los cuales se establecieron sus respectivas estructuras mediante análisis espectral: cis-8,10-dietil-3,4-dehidrolobelidiol, siendo el compuesto mayoritario, seguido de trans-8-etil-10-fenil-3,4-dehidrolobelidiol y cis-8-etil-10-fenil-3,4-dehidrolobelidiol. Además, realizaron una evaluación de las propiedades antiinflamatorias de los residuos obtenidos del extracto etanólico de hojas, tallos y flores en dos modelos de edema plantar con inflamación aguda inducida por carragenina y veneno de cobra en ratones, observando una supresión del edema a una dosis de 100 mg/kg. Asimismo, se consideró el potencial antiinflamatorio de esta planta en relación con la activación del sistema de complemento por vía clásica y vía alterna, donde determinaron que residuos, fracciones no alcaloides y fracciones alcaloides y los tres alcaloides piperidínicos, a una concentración de 0.125 a 1.0 mg/mL inhibían la activación del complemento, predominantemente en la vía clásica (Philipov et al., 1998).

3. JUSTIFICACIÓN

La fitodermatitis producida por el contacto con diversas plantas de la familia *Anarcadiaceae* es un problema de salud común a nivel mundial, debido a que producen urushiol como parte de sus metabolitos secundarios, generando un proceso inflamatorio agudo local en la zona afectada, siendo la hiedra venenosa (*Toxicodendron radicans*) la principal planta causante de este padecimiento, debido a que se encuentra alrededor del planeta, especialmente en zonas boscosas. En México, especialmente en la zona purépecha del estado de Michoacán, la fitodermatitis inducida por urushiol es una de las afecciones más comunes entre la población, debido a que la hiedra venenosa se encuentra ampliamente distribuida en la meseta purépecha, por lo que el contacto con dicha planta, especialmente entre la población campesina es sumamente común. Gracias al conocimiento ancestral proporcionado por la medicina tradicional purépecha, se sabe que las comunidades que habitan la meseta purépecha utilizan una planta local de la familia *Campanulaceae* para contrarrestar el proceso inflamatorio producido por hiedra venenosa o “Bembéricua”, observándose de manera empírica que al tratar la zona afectada con la planta *Lobelia laxiflora variedad patzquarensis*, ésta cura la fitodermatitis causada por el urushiol de manera rápida y eficaz.

4. HIPÓTESIS

La planta *Lobelia laxiflora variedad patzquarensis* posee metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria en la fitodermatitis por contacto inducida por urushiol.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Identificar los metabolitos secundarios de la planta *Lobelia laxiflora* variedad *patzquarensis* involucrados en la respuesta antiinflamatoria contra la fitodermatitis por contacto inducida por urushiol.

5.2. Objetivos específicos

- Caracterizar los metabolitos secundarios producidos por *Lobelia laxiflora* variedad *patzquarensis*.
- Aislar los metabolitos secundarios de la planta *Lobelia laxiflora* variedad *patzquarensis* con propiedades antiinflamatorias reportadas en la literatura.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria de los metabolitos secundarios aislados de *Lobelia laxiflora* variedad *patzquarensis* en un modelo *in vivo*

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Obtención del extracto de acetato de etilo de hoja de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*

La metodología para la obtención del extracto de hoja de *L. laxiflora* var. *patzquarensis* se llevó a cabo de la siguiente manera: se tomaron 1.076 kilogramos de planta fresca, separando las hojas del resto de la zona aérea, para posteriormente ser sometidas a maceración en hexano puro por 5 días a temperatura ambiente y protegida de la luz (Figura 19). El macerado es filtrado con papel Whatman 3 MM y concentrado a 70°C en rotavapor, dejando evaporar a sequedad a temperatura ambiente en campana de extracción. De igual manera, las hojas fueron maceradas en acetato de etilo puro, y posteriormente en metanol siendo ambos extractos evaporados en rotavapor bajo las mismas condiciones que para el extracto hexánico.



Figura 19. Separación de la parte aérea de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*. Tomada por Jania Godínez Orozco

6.2. Obtención de metabolitos secundarios con actividad biológica del extracto de hoja de *L. laxiflora* var. *patzquarensis* mediante métodos químicos

Con la finalidad de facilitar la extracción de los metabolitos secundarios del extracto acetato de etilo de hoja, se lleva a cabo la fragmentación del mismo mediante cromatografía en columna, en donde se utilizó una columna de cristal de aproximadamente 4 cm de diámetro, empleando como fase estacionaria gel de sílice Mesh 230/400 hidratado con hexano y diversas mezclas de disolventes con polaridades ascendentes como fase móvil, esto mediante un cálculo previo (véase en anexo). Además, para verificar la separación del extracto crudo, cada una de las fracciones fue analizada mediante cromatografía de capa fina (TLC), que consiste en utilizar una placa de gel de sílice 60 como fase estacionaria y una mezcla de 1 mL de disolvente de polaridad diversa como fase móvil, siendo observado su comportamiento en luz UV/visible, además de revelándose con ayuda de una solución de ácido sulfúrico al 20% y calor.

Tabla 7. Distribución de las fracciones en cromatografía en columna

Fracción	Disolvente(s) Fase móvil	Volumen (mL)	Relación entre disolventes de fase móvil
A	Hexanos	350	100%
B	Hexanos- Acetato de etilo	315:35	9:1
C		245:105	7:3
D		175:175	5:5
E		245:105	3:7
F		35:315	1:9
G	Acetato de etilo	350	100%
H	Metanol	350	100%

Para determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto fraccionado, cada una de las fracciones obtenidas deben ser caracterizadas utilizando espectrometría de resonancia magnética nuclear de protones (RMN-¹H), y mediante sus espectros obtener sus correspondientes perfiles, identificando así sus respectivas estructuras químicas. De manera conjunta, mediante una consulta bibliográfica, se determinan aquellos metabolitos secundarios con actividad biológica, así como sus características físico-químicas, permitiendo su posterior aislamiento y purificación mediante cromatografía en columna y cromatografía en capa fina.

6.3. Método preparativo para la obtención de ácido ursólico y ácido oleanólico a partir de *L. Laxiflora* var. *patzquarensis*

El aislamiento y purificación de los estereoisómeros ácido ursólico y ácido oleanólico fue realizado en base a la metodología indicada por Ludeña para la obtención de ácido ursólico a partir de *C. revolutum* con pureza superior al 95.5% (Ludeña, 2018). Para ello, se juntaron las fracciones E-1 y E-2 con ayuda de diclorometano puro y se dejó evaporar a temperatura ambiente hasta sequedad. Una vez seco el extracto, éste fue resuspendido a baño maría a 60°C en 70 mL de etanol al 96% por 1.5 horas en agitación constante, siendo atemperada y almacenada a 4°C por 48 horas. Posteriormente el extracto fue trasvasado y centrifugado a 10 mil rpm a 5°C por 10 minutos, hasta la formación de un precipitado. Dicho precipitado fue decantado, reservando el precipitado para su recrystalización y resguardando el sobrenadante para su posterior tratamiento.

Para la recrystalización del precipitado obtenido se emplearon 35 mL de etanol absoluto, siendo homogenizado y recentrifugado a 10 mil rpm a 5°C por 10 minutos. Una vez centrifugada la muestra ésta fue nuevamente decantada, conservando únicamente el precipitado obtenido, siendo nuevamente decantado y recrystalizado con 35 mL de etanol absoluto, y resuspendido en baño María a 78.5°C con agitación constante hasta observar los cristales característicos de ácido ursólico reportados en dicho trabajo.

Por otro lado, el sobrenadante únicamente fue resuspendido en baño María a 78.5°C y atemperado.

6.4. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de *L. laxiflora* var. *patzquarensis* en un modelo *In vivo* (*Mus musculus*)

Para establecer la actividad antiinflamatoria los metabolitos secundarios obtenidos del extracto de hoja de *L. laxiflora* var. *patzquarensis* en fitodermatitis por contacto por *T. radicans* se utilizaron como modelo *in vivo* 25 ratones albinos hembra de 6-8 semanas de edad (basado en el trabajo realizado por Lui y col. en 2019), en condiciones de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM- 062-ZOO-1999, con acceso a agua y alimento *ad libitum*. Además, se utilizó como agente flogístico la savia fresca de *Toxicodendron radicans* (antiguamente *Rhus toxicodendron*) proveniente de Tingüindín, Michoacán que, de acuerdo con la literatura contiene al metabolito secundario urushiol, responsable de la fitodermatitis por contacto de numerosas plantas, entre ellas *T. radicans*. Asimismo, se emplearon como tratamientos los metabolitos secundarios previamente aislados de la planta *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*: ácido ursólico (AU), ácido oleanólico (AO), taraxerol (T), lupeol (L) y β -amirina (β).

24 horas previas a la inducción de la fitodermatitis, se preparó el área dorsal de cada uno de los individuos, siendo depilados con ayuda de un rastrillo en un área de aproximadamente 1 centímetro cuadrado, esto con la finalidad de descartar cualquier reacción adversa provocada por el rasurado. El proceso inflamatorio fue inducido en el modelo *in vivo* utilizando savia fresca de *T. radicans* mediante la aplicación tópica de la misma en el área dorsal depilada de cada uno de los murinos cada 24 horas durante 2 días, hasta observar la formación de una costra parda en la zona de inoculación.

Una vez visible la fitodermatitis en cada una de ellas se procedió a establecer las dimensiones de la costra formada en cada uno de los individuos utilizando un calibrador vernier digital y, de acuerdo con la posición anatómica del dorso de cada animal, tomándose como referencia la porciones norte-sur (cabeza-cola) y este-oeste (ventral izquierda - derecha) de la zona afectada (Figura 20).



Figura 20. Medición del dorso del ratón con fitodermatitis por contacto inducida por savia de *T. radicans*.

Para evaluar la actividad antiinflamatoria de los metabolitos obtenidos del extracto de hoja de *L. laxiflora* var. *patzquarensis*, cada uno de ellos fue aplicado por vía tópica cada 24 horas

durante 3 días en la zona afectada, empleando etanol como vehículo. Los individuos fueron divididos en 5 grupos, cada uno con un valor de N=5, en las concentraciones que se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Concentración de metabolitos secundarios a probar en modelo <i>in vivo</i>				
Grupo	No. individuos	Tratamiento	Dosis	Concentración mg/mL
A	5	Ácido ursólico	10 μ L	84
B	5	Ácido oleanólico		5.5
C	5	Taraxerol, lupeol y β -amirina		1.1
D	5	Ácido ursólico - Ácido oleanólico + Taraxerol, lupeol y β -amirina		
Control	5	Etanol 70%		-----

Los tratamientos administrados fueron los siguientes: para el grupo A se administraron 10 μ L de ácido ursólico, y su correspondiente isómero, el ácido oleanólico fue empleado para el grupo B en el mismo volumen para cada uno de los individuos; de igual manera, al grupo C de murinos les fue administrado 10 μ L el conjunto de los isómeros taraxerol, lupeol y β -amirina.

Asimismo, con el propósito de descubrir si existe alguna interacción entre los metabolitos encontrados, al grupo D se administraron 10 μ L de una mezcla de los compuestos de los grupos A, B y C.

7. RESULTADOS

El conocimiento empírico obtenido a través del tiempo respecto al uso tradicional de plantas con finalidad terapéutica ha demostrado que la fitoterapia es una herramienta de vital importancia dentro de la comunidad purépecha, debido a la eficiencia del uso de diversas plantas regionales como tratamiento a múltiples padecimientos de forma rápida y eficaz. Un claro ejemplo es el uso de *contrabembélica* (*Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*) para el tratamiento contra la fitodermatitis por contacto alérgica provocada por el contacto directo de la piel con la savia secretada por la planta *bembélica* (*Toxicodendron radicans*), donde se ha observado de manera empírica que, al utilizar esta planta previamente cocida en agua y frotarse sobre la zona afectada genera un efecto a sumamente notorio en 24 horas y sin los efectos adversos que los fármacos de origen sintético como los corticosteroides pueden generar. En base a ello y, de acuerdo con los experimentos realizados anteriormente, se obtuvieron los siguientes resultados:

7.1. Obtención del extracto de acetato de etilo de hoja de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*

Se lograron obtener 3 extractos crudos a partir de las hojas frescas de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*, incluyendo el extracto acetato de etilo, el cual presentaba una consistencia pastosa, con coloración verde intensa (Figura 21).



Figura 21. Extractos hexánico (izquierda), acetato de etilo (centro) y metanólico (derecha) obtenidos a partir de hoja de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*. Tomada por Jania Godínez Orozco

7.2. Obtención de metabolitos secundarios del extracto de hoja de *L. laxiflora* var. *patzquarensis*

En base al manejo empírico de la planta *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis* mencionado anteriormente se determinó que los compuestos sintetizados por dicha planta con propiedades terapéuticas para la fitodermatitis por contacto por *T. radicans* pudieran ser de baja polaridad, por lo que se obtuvieron 10 gramos de extracto crudo de hoja de dicha

planta mediante maceración en acetato de etilo, para posteriormente llevar a cabo su fragmentación mediante cromatografía en columna bajos las condiciones establecidas en materiales y métodos, utilizando una mezcla de disolventes apolares (hexano, acetato de etilo), obteniendo un total de 21 fracciones, tal como se indica en la siguiente tabla:

Tabla 9. Fracciones obtenidas por cromatografía en columna del extracto de <i>L. laxiflora</i> var. <i>patzquarensis</i>		
Fracción	Relación de los disolventes empleados	Nº muestras / subfracción
A	Hexanos 100%	2
B	Hexanos/ Acetato de etilo 9:1	3
C	Hexanos/ Acetato de etilo 7:3	5
D	Hexanos/ Acetato de etilo 5:5	3
E	Hexanos/ Acetato de etilo 3:7	3
F	Hexanos/ Acetato de etilo 1:9	2
G	Acetato de etilo 100%	1
H	Metanol 100%	2

Asimismo, dichas fracciones fueron sometidas a cromatografía en capa fina, donde se pudo observar que la mayoría de ellas estaban compuestas de una gran mezcla de metabolitos secundarios. Sin embargo, en la fracción B-3 se pudo apreciar la presencia de una mancha de tonalidad amarilla bajo luz visible y una fluorescencia azul bajo luz UV, indicando la presencia de un compuesto completamente puro, al igual que las fracciones C-3, C-4 y C-5, en donde bajo luz visible se aprecia diversas tonalidades verdes, algunas de ellas características de la clorofila presente en la planta, y bajo luz UV presentan una mezcla de fluorescencia roja y azul (Figura 22).

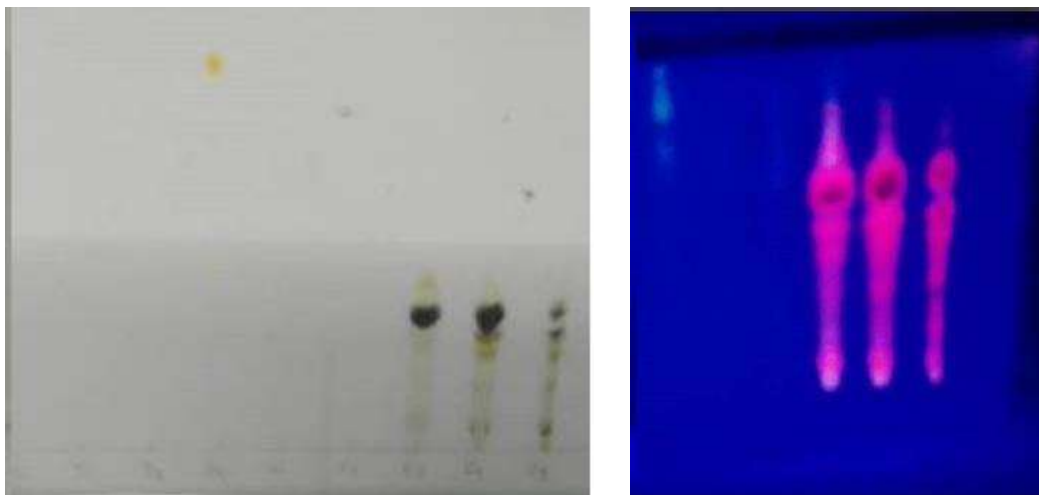


Figura 22. Placas de cromatografía en capa fina (TLC) de las fracciones A, B y C vistas en luz visible (izquierda) y luz UV de las fracciones B y C (derecha).

Por otro lado, en las fracciones D-2, D-3, E-1 y E-2 se puede apreciar una similitud en cuanto a su separación bajo luz visible, donde se apreciaron diversas tonalidades amarillo-verdosas y bajo luz UV una mezcla de tonalidades rojas y azules, lo cual fue indicativo de que dichas fracciones pudieran contener el mismo tipo de compuestos (Figura 23).

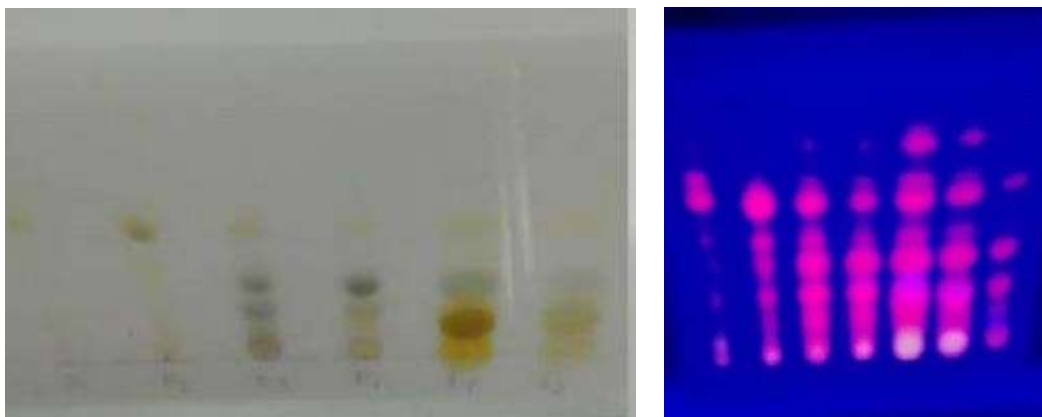


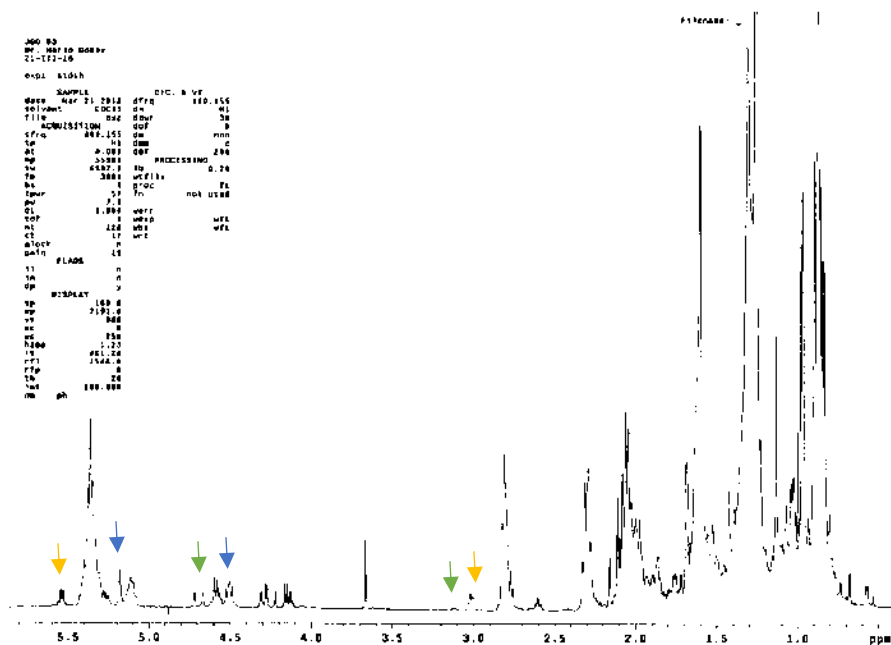
Figura 23. Placas de cromatografía en capa fina (TLC) de las fracciones D, E y F vistas en UV (izquierda) y luz visible (derecha).

Para conocer el perfil químico de cada una de las fracciones obtenidas se llevó a cabo un análisis espectrométrico de resonancia magnética nuclear de protones (RMN- ^1H), que es una técnica utilizada para determinar las estructuras químicas de los compuestos orgánicos mediante el estudio de núcleos atómicos con un número impar de protones de hidrógeno (^1H). En dicho análisis se encontraron una amplia variedad de compuestos en cada uno de ellos; sin embargo, en la fracción B-3, se pudieron identificar las señales correspondientes a 3 triterpenos pentacíclicos: taraxerol, lupeol y β -amirina (Figura 24), y mediante una base de datos se pudo observar que dichos compuestos son estereoisómeros, por lo que presentan una polaridad casi idéntica, haciendo muy difícil su separación. Además,

mediante una consulta bibliográfica se encontró que dichos compuestos poseen actividad biológica variada, incluyendo propiedades de carácter antiinflamatorio, tal y como se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 10. Evidencia de la actividad antiinflamatoria de los metabolitos secundarios obtenidos en *L. laxiflora* var *patzquarensis*

Metabolito secundario	Proceso inflamatorio
Ácido ursólico	Inflamación por cardiopatía diabética en ratas (Wang et al., 2018). Inflamación por carragenina inducida en ratas (Pastorello et al., 2007).
Ácido oleanólico	Inflamación inducida por carragenina en ratas (Dharmappa et al., 2009).
Taraxerol	Inflamación inducida por carragenina en ratas (Biswas et al., 2009; Khanra et al., 2017).
Lupeol	Edema auricular inducido por acetato de 12-o-tetradecanoilforbol (Fernández et al., 2001). Inflamación alérgica de vías respiratorias por ovoalbúmina (Vasconcelos et al., 2008).
β amirina	Pancreatitis aguda inducida por ceruleína en ratas (Melo et al., 2011). Periodontitis aguda (Holanda Pinto et al., 2008).



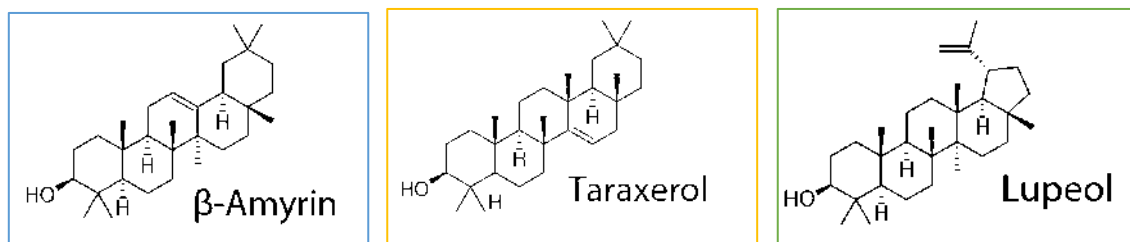
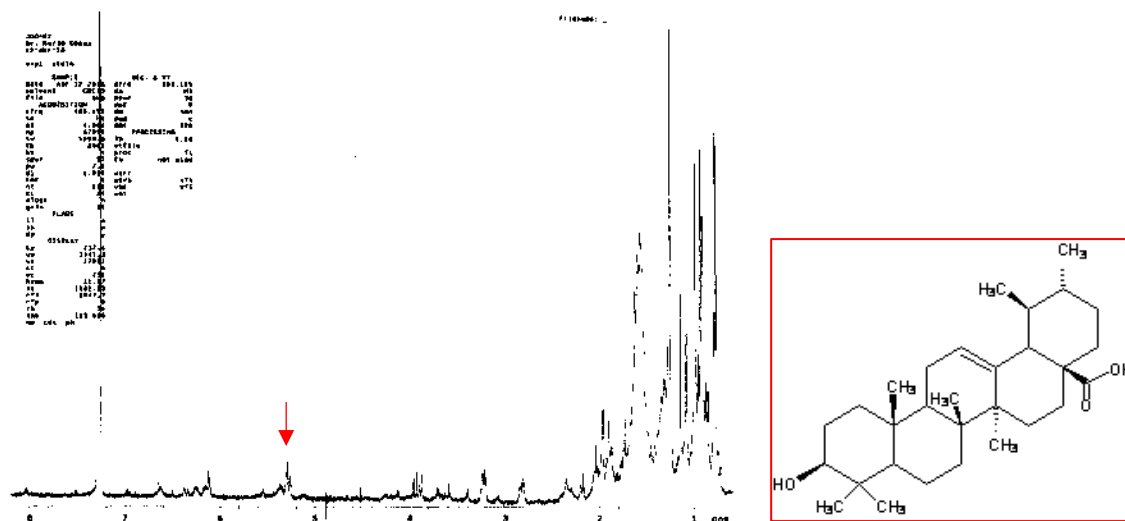


Figura 24. Perfil de la fracción B3 del extracto de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis* (arriba) obtenido mediante espectrometría de resonancia magnética nuclear de protón (RMN- ^1H) y estructura química de los compuestos taraxerol, lupeol y β -amirina (abajo).

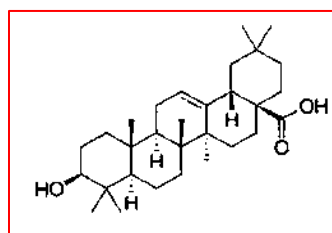
Asimismo, es importante destacar que se estableció la relación entre el extracto crudo de hoja en acetato de etilo con la porción que contenía a los metabolitos secundarios taraxerol, lupeol y β -amirina purificados de acuerdo a lo indicado en materiales y métodos, en donde se determinó que la presencia de dichos compuestos representó alrededor del 1% respecto al extracto crudo de la planta, por lo que los metabolitos secundarios fueron considerados como compuestos minoritarios.



Ácido ursólico

Por otro lado, en las fracciones E-1, E-2, así como en las fracciones AE y MOH-1 se pudo encontrar las señales correspondientes a dos triterpenos pentacíclicos conocidos, y mediante su búsqueda en una base de datos, se estableció que dichas señales corresponden a los estereoisómeros ácido ursólico (ácido 3- beta-hidroxi-12-ursen-28-ico) y ácido oleanólico (ácido 3-beta-hidroxiolean-12-en-28-oico), que diferenciándose únicamente en la posición de un grupo metilo (CH_3 -) en el carbono 19 de ambas moléculas y, al igual que los triterpenos mencionados anteriormente, presentan una polaridad casi idéntica, por lo que su separación resulta sumamente difícil (Figura 25). Asimismo, de acuerdo con la

literatura, tanto el ácido ursólico como el ácido oleanólico presentan múltiples propiedades terapéuticas, y al igual que los compuestos mencionados anteriormente, poseen actividad biológica de carácter antiinflamatorio.



Ácido oleanólico

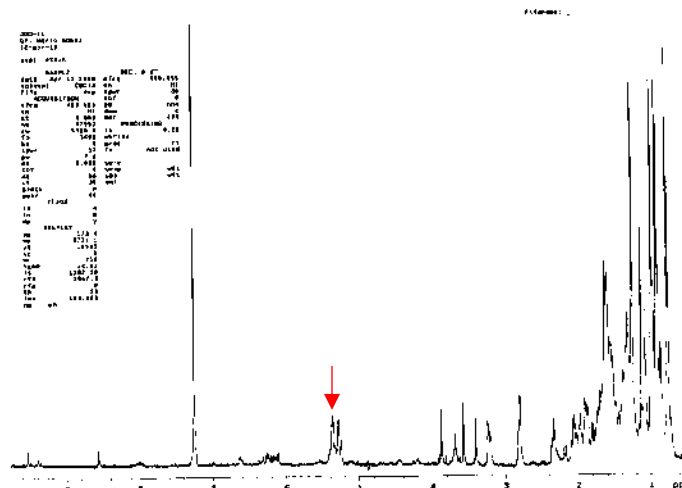


Figura 25. Perfil de las fracciones E1 (arriba) y E2 (abajo) del extracto de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis*, obtenidos mediante espectrometría de resonancia magnética nuclear de protón (RMN- ^1H). Estructura química de los compuestos ácido ursólico y ácido oleanólico.

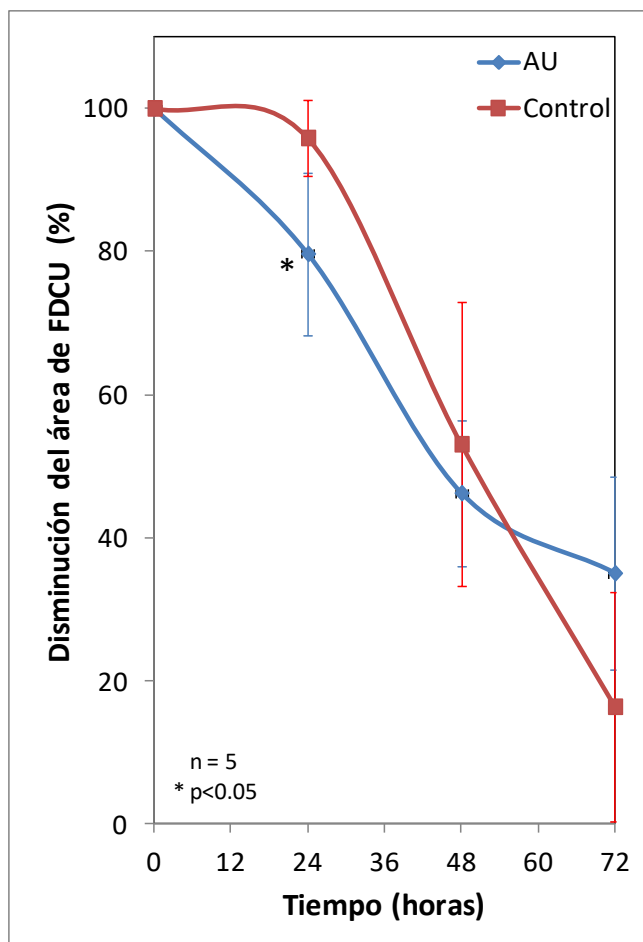
7.3. Método preparativo para la obtención de ácido ursólico y ácido oleanólico

Pese a que se encuentra reportado que la separación del ácido ursólico y el ácido oleanólico difícilmente; sin embargo, en 2017 de acuerdo con el trabajo de Ludeña, la separación de dichos compuestos es posible utilizando una técnica de recristalización selectiva del ácido ursólico, la cual además de ser sencilla, garantiza un porcentaje de pureza superior al 95%, por lo que se llevó a cabo la separación de dichos metabolitos secundarios a partir de las fracciones E-1 y E-2 (véase materiales y métodos), en donde se pudo apreciar la formación de un precipitado blanquecino fino, similar a los cristales de ácido ursólico descritos por el autor.

Además, se estableció la relación entre el extracto crudo de hoja en acetato de etilo con las porciones que contenían a los metabolitos secundarios ácido ursólico y ácido oleanólico, purificados de acuerdo a lo indicado en materiales y métodos, en donde se determinó que la presencia de ácido ursólico representó alrededor del 84% respecto al extracto crudo de la planta, y el ácido oleanólico por su parte representa al 5.5% por lo que se consideró que el ácido ursólico como es un metabolito secundario mayoritario, en cambio su contraparte, el ácido oleanólico fue considerado como un metabolito secundario medianamente mayoritario.

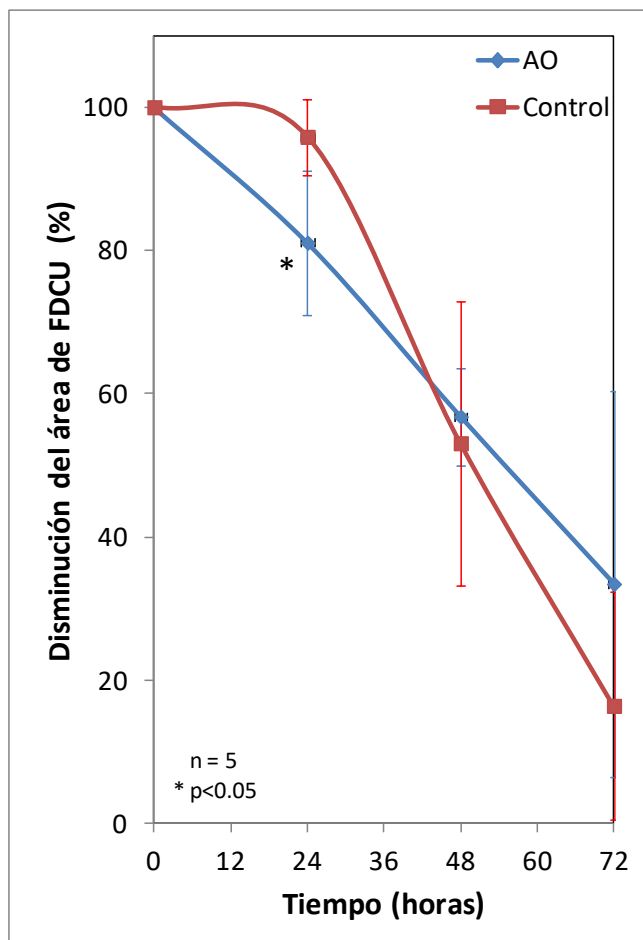
7.4. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de los metabolitos secundarios aislados en un modelo *In vivo* (*Mus musculus*)

Posterior a la inducción de la fitodermatitis por contacto en la zona a tratar, se realizaron las mediciones correspondientes a cada uno de los individuos de los diferentes grupos, antes y durante los 3 días de tratamiento con los metabolitos aislados (cada 24 horas), observando lo siguiente:



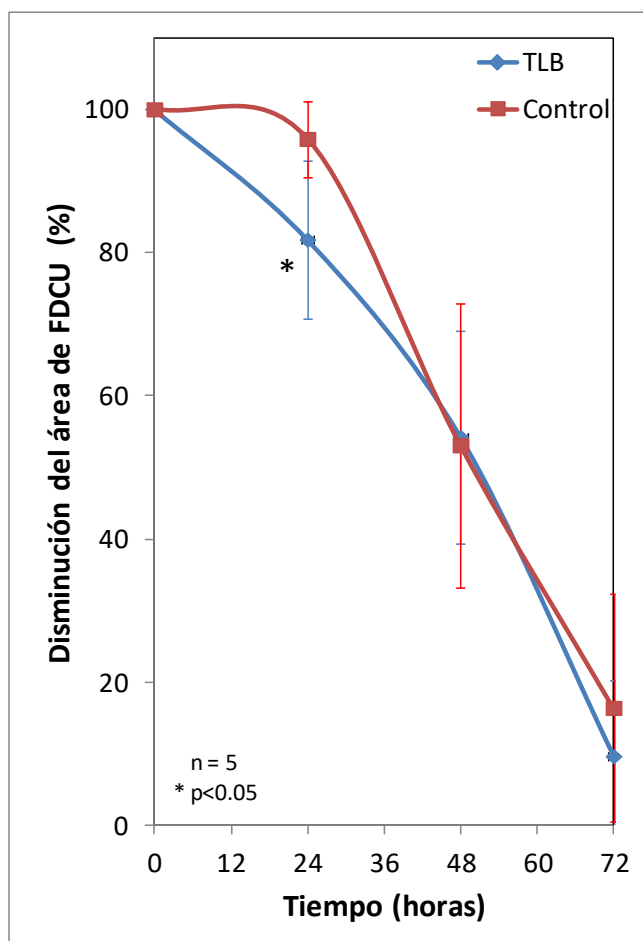
Gráfica 1. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo A, tratado con ácido ursólico.

En los individuos del grupo A tratados con ácido ursólico se puede apreciar que el efecto antiinflamatorio fue sumamente notorio a partir de las primeras 24 horas de tratamiento, donde el tamaño de la costra disminuyó en un 22%. Al día siguiente el efecto se mantuvo de manera que el tamaño de la costra disminuyó de forma similar al día anterior; sin embargo, en el último día de tratamiento se pudo apreciar una disminución importante de la actividad antiinflamatoria de dicho compuesto, lo cual implica que la recuperación de los individuos de dicho grupo tiende a ser ligeramente lenta.



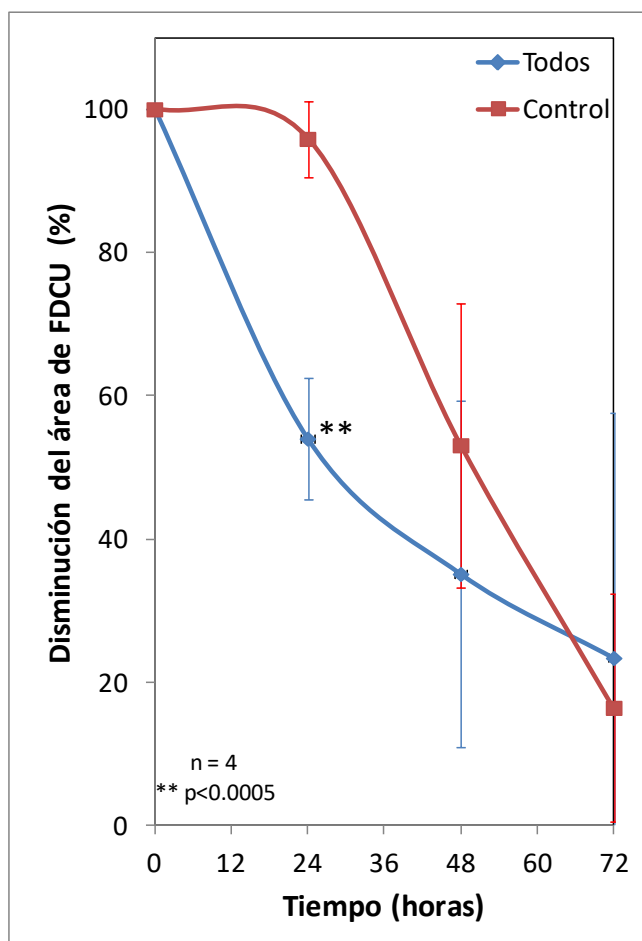
Gráfica 2. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo B, tratado con ácido oleanólico.

Por otro lado, los individuos del grupo B tratados con ácido oleanólico presentaron una disminución del proceso inflamatorio del 18% tras las 24 horas de inicio del tratamiento, incrementó en comparación con la actividad producida por su estereoisómero, la cual se mantiene de la misma manera. Sin embargo, al día siguiente se pudo apreciar que la actividad antiinflamatoria del ácido oleanólico incrementó de forma ligera, y a las 72 horas el porcentaje de disminución fue mucho mayor que en días anteriores, demostrando que el ácido oleanólico tiene una actividad antiinflamatoria igual o incluso más potente que su estereoisómero.



Gráfica 3. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo C, tratado con taraxerol, lupeol y β amirina).

En los miembros del grupo C, tratados con la mezcla de estereoisómeros taraxerol, lupeol y β -amirina se pudo apreciar que hubo un efecto antiinflamatorio similar al observado con ácido ursólico, en donde el porcentaje de disminución del proceso inflamatorio del 21% tras las 24 horas de inicio del tratamiento, presentando un comportamiento bastante similar durante el tiempo restante del tratamiento y similar al tratamiento con los estereoisómeros mencionados con anterioridad.



Gráfica 4. Porcentaje promedio de la actividad antiinflamatoria del Grupo D, tratado con ácido ursólico, ácido oleanólico, taraxerol y β -amirina.

En los individuos del grupo D, tratados con el conjunto de metabolitos ácido ursólico, ácido oleanólico, taraxerol, lupeol y β -amirina se pudo apreciar una mejoría sumamente notoria, debido a que el efecto antiinflamatorio tras las 24 horas de administración del tratamiento se duplicó comparado con los individuos tratados con los metabolitos secundarios de forma aislada. A las 48 horas post tratamiento el efecto antiinflamatorio fue muy similar al de los grupos anteriores ocurriendo lo mismo al día siguiente, demostrando que en conjunto generan sinergia en cuanto a su efecto antiinflamatorio, tal como sucede en la naturaleza.

8. DISCUSIÓN

En la primera sección de la presente Tesis se ha descrito ampliamente la importancia de la medicina tradicional como fuente de conocimiento en la terapéutica contemporánea. Actualmente y debido al avance en el conocimiento del metabolismo primario y, especialmente del secundario de las plantas, existe una tendencia de la biomedicina a la identificación, aislamiento y su posterior uso, de los metabolitos secundarios con actividad terapéutica de plantas medicinales de uso tradicional. El presente trabajo es un claro ejemplo de lo anterior y muestra cómo el funcionamiento de la medicina tradicional puede describirse en términos de raciocinio y de metodología científica contemporánea. Se reporta asimismo la presencia de cinco metabolitos secundarios en *L. laxiflora* var. *patzquarensis*, descritos anteriormente en la literatura como metabolitos con actividad antiinflamatoria en diferentes procesos inflamatorios (Tabla 10).

Es relativamente común el hecho de que una planta descrita tradicionalmente con actividad antiinflamatoria contenga múltiples metabolitos secundarios relacionados a dicha actividad. Por ejemplo, plantas del género *Ligustrum*, usadas en la medicina tradicional china para la bronquitis y hepatitis, contienen amirina, ácido betulínico y lupeol (*L. pricei*); y los ácidos ursólico y oleanólico en la especie *L. lucidum* (Wu et al., 2011). Aunque el modelo roedor es el de prueba común, llama la atención que los diferentes metabolitos en estas plantas no hayan sido probados para la afectación de origen, sino en un proceso inflamatorio diferente (carragenina, veneno de cobra, etc.). Asimismo, no determinan si el efecto antiinflamatorio observado se debe a un solo metabolito, a varios, o si hay un efecto sinérgico entre ellos.

En este sentido, el presente trabajo contribuye significativamente al conocimiento del área debido a que el efecto antiinflamatorio de los metabolitos de *L. laxiflora* var. *patzquarensis*, se mide en el proceso de origen, esto es, en fitodermatitis ocasionada por la savia de *Toxidendron radicans* (bembérica). De esta manera, el efecto antiinflamatorio de los metabolitos sí es directo y real. En este mismo sentido, es relevante indicar que usamos savia de bembérica en lugar de urushiol solo, porque observamos que el urushiol, aunque está demostrado que es un componente principal de la fitodermatitis por *T. radicans*, por sí mismo no refleja con exactitud el proceso patológico producido por la savia (observación personal). Este hecho sugiere que además del urushiol, existen otros elementos químicos de la savia de la bembérica que influyen en la fitodermatitis observada.

Otra contribución relevante de este trabajo es el hecho de establecer la actividad antiinflamatoria aislada del ácido ursólico, del ácido oleanólico y de la β amirina-lupeol-taraxerol (a estos tres es extremadamente difícil separarlos por carga, que es muy similar), y la contribución de los cinco al mismo tiempo. Los resultados nos indican que todos los metabolitos probados de manera aislada poseen actividad antiinflamatoria significativa. Sin embargo, el uso simultáneo de los cinco da lugar a un efecto mucho mayor, es decir, existe

un efecto sinérgico entre ellos. El conocimiento y uso tradicional de la planta indica que el efecto antiinflamatorio de la bembéricua es potente y evidente “al día siguiente” de iniciado el tratamiento. Como podemos observar en la gráfica donde se prueban todos, el efecto antiinflamatorio es, a diferencia del uso individual, intenso en las primeras 24 horas postratamiento, lo que explicaría lo observado tradicionalmente. De esta manera, estos resultados contribuyen a la noción de que el uso combinado y simultáneo de antiinflamatorios podrían dar mejores resultados terapéuticos.

Finalmente, este trabajo nos muestra un panorama maravilloso a los mexicanos en el sentido de que la biomedicina actual puede nutrirse de nuestro conocimiento medicinal ancestral, el cual es uno de los más ricos del planeta.

9. CONCLUSIÓN

De este trabajo concluimos que los metabolitos secundarios aislados de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis* e identificados como compuestos con actividad antiinflamatoria, son los responsables de la actividad antiinflamatoria de esta planta en la fitodermatitis causada por *T. radicans* (bembérica).

10. ANEXOS

10.1. Anexo I: parámetros y condiciones a establecer previos al montaje de una cromatografía en columna

Antes de llevar a cabo la separación del extracto de hoja de *Lobelia laxiflora* var. *patzquarensis* obtenido en acetato de etilo mediante cromatografía en columna, se establecieron los parámetros y condiciones a emplear para el montaje de la columna:

W_m = peso del extracto seco

d = diámetro de la columna a utilizar

h = altura de la corrida

V_f = volumen de la fracción

N_f = número de fracciones

V_p = volumen por polaridad a emplear ($V_p = V_f$)

Primeramente se determinó la cantidad de extracto a utilizar, que en nuestro caso fue de 10 gramos y considerando que la actividad antiinflamatoria de la planta observada de manera empírica se produce una vez que esta fue sometida a cocción, lo cual nos sirvió de indicativo para establecer que los metabolitos de interés son termorresistentes, además de tratarse de moléculas con carácter lipofílico (apolares), por lo que para su separación se seleccionaron 3 disolventes orgánicos de baja polaridad: hexano, acetato de etilo y metanol, los cuales fueron manejados en diferentes proporciones, con la finalidad de facilitar la fragmentación del extracto para su posterior purificación, se determinaron las fracciones a obtener, tal como se indica en la siguiente tabla:

Tabla 11. Disolventes a emplear en cromatografía en columna (fase móvil)								
Disolvente	Proporciones a manejar							Total de fracciones
Hexanos	10	9	7	1	3	1		8
Acetato de etilo		1	3	1	7	9	10	
Metanol								
Fracción	A	B	C	D	E	F	G	

Nota: el metanol se adiciona con la finalidad de “arrastrar” compuestos que pudieron quedar atrapados en el gel de sílice posterior a la cromatografía en columna.

Posteriormente, se estableció diámetro de columna a utilizar (d), por lo que se seleccionó una columna de 4 cm de diámetro. Una vez conocido el diámetro de la columna a manejar,

establecimos la altura ideal para la corrida de nuestro extracto, recordando que para garantizar una separación eficaz deberá de ser mínimo de 4 pulgadas, por lo que se determinó que h ideal para la corrida sería de 6 pulgadas (15.24 centímetros).

Luego procedimos a calcular el volumen “muerto” (V_p) a recolectar al inicio de la corrida:

Primero establecimos la fórmula para calcular el volumen de un cilindro, correspondiente al lugar donde se encontrará el gel de sílice con el disolvente, ya que la columna a utilizar es de forma cilíndrica:

$$V_{cil} = a_b * h$$

donde a_b = área de un círculo y h = altura del cilindro

Sin embargo, el área de un círculo es dada por $a_b = \pi * r^2$, por lo que la fórmula queda de la siguiente manera:

$$V_{cil} = (\pi * r^2) * h$$

Procedimos a calcular el volumen de la zona de la columna a manejar, tomando en cuenta los parámetros previamente establecidos: $V_{cil} = (\pi (2 \text{ cm})^2) * 15.24 \text{ cm}$ (h en cm)

Por lo tanto, obtuvimos que $V_{cil} = 191.5 \text{ cm}^3$ que corresponde al 100% de volumen empleado para llevar a cabo la cromatografía en la columna (gel de sílice con disolvente). Una vez conocido el valor de V_{cil} , procedimos a calcular el volumen de disolvente a utilizar por fracción (V_p) estableciendo la siguiente relación:

$$V_p = 60\% \text{ disolvente y } 40\% \text{ gel de sílice}$$

Sustituyendo $V_p = 191.6 \text{ cm}^3 * 0.6$

donde 0.6 = % de disolvente

$$V_p = 115 \text{ cm}^3$$

No obstante, este número se multiplica por 3, que corresponde al número de veces que se adicionará el disolvente dando así un volumen “muerto” de 350 mililitros, que será además el valor de V_f .

Además, tomando en cuenta la proporción de los solventes a utilizar, fue posible calcular la cantidad necesaria de disolventes para llevar a cabo la cromatografía en columna:

Hex 100% = 350 mL

Hex-AE 9:1 = 315 mL:35 mL

Hex-AE 7:3= 245 mL:105 mL

Hex- AE 1:1= 175 mL:175 mL

Hex-AE 3:7= 105 mL:245 mL

Hex-AE 1:9= 35 mL:315 mL

AE 100%= 350 mL

Vol. Total Hex/ AE= 1250 mL

11. REFERENCIAS

- Adam, J., Pichler, W. J., & Yerly, D. (2011). Delayed drug hypersensitivity: Models of T-cell stimulation. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 71(5), 701–707. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2010.03764.x>
- Alonzo, L., & Rodríguez, M. E. (1999). Dermatitis por contacto ocupacional. *Revista Cent Dermatol Pascua*, 8(2).
- Ávalos, A., & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA*, 2(3), 119–145. <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>
- Barros, C. M., Kimiko, R., Machado, A., Gerola, L. R., & Salomão, R. (2011). Citocinas y dolor. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 61(2), 137–142. http://www.scielo.br/pdf/rba/v61n2/es_v61n2a14.pdf
- Bello, M. Á., Hernández, S., Lara, M. B. N., & Salgado, R. (2015). Plantas útiles de la comunidad indígena Nuevo San Juan Parangaricutiro, Michoacán, México. *Polibotánica*, 39, 175–215. <http://www.redalyc.org/pdf/621/62137097010.pdf>
- Berrón, R., Penagos, M. J., Zaragoza, J. M., Rodríguez, J., & Blancas, L. (2003). El sistema del complemento. Vías clásica y de la lectina que se une a la manosa. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 12(2), 42–52.
- Biswas, M., Biswas, K., Ghosh, A. K., & Haldar, P. K. (2009). A pentacyclic triterpenoid possessing anti-inflammatory activity from the fruits of *Dregea volubilis*. *Pharmacognosy Magazine*, 5(19 SUPPL.), 64–68. <https://doi.org/10.3742/opem.2009.9.4.315>
- Bonkanka, C. X. (2007). *Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal*.
- Bórdes, R., Martínez, M., García, E., & Guisado, R. (2010). *El proceso inflamatorio*. Escuela Universitaria de Ciencias de La Salud. [http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero 4/pinflamatorio4.htm](http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm)
- Brunton, L. L., Hial-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (2019) Goodman & Gildman: Las bases farmacológicas de la terapéutica 13ª edición. Ciudad de México, México. McGraw Hill Education.
- Büdinger, L., & Hertl, M. (2000). Immunologic mechanisms in hypersensitivity reactions to metal ions: An overview. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 55(2), 108–115. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2000.00107.x>
- Cabezas, S. (2018). *Sinopsis De La Familia Anacardiaceae*. [https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/83869/TFG definitivo Sandra Cabezas Savariego.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/83869/TFG%20definitivo%20Sandra%20Cabezas%20Savariego.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Cañigüeral, S., & Vila, R. (2005). La fitoterapia como herramienta terapéutica. *Ginecología y Obstetricia Clínica*, 6(1), 43–51.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). FLAVONOIDES : CARACTERISTICAS QUÍMICAS Y APLICACIONES. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14.
- Castillo, A. (2007). *Síntesis de terpenos bioactivos: empleo de Bellardia trixago y ciclaciones biomiméticas*.
- Colbeck, C., Clayton, T., & Goenka, A. (2013). Poison ivy dermatitis. *Archives of Disease in Childhood*, 98(12), 12. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-305122>
- Cosío, B. G., Torrego, A., & Adcock, I. M. (2005). Mecanismos Moleculares de los Glucocorticoides. *Archivos de Bronconeumología*, 41(1), 34–41. <http://www.archbronconeumol.org>
- Cuevas, H., & Cuevas, J. E. (2012). Alergia e hipersensibilidad: conceptos básicos para el pediatra. *Revista Mexicana de Pediatría*, 79(4), 192–200.
- Dharmappa, K. K., Kumar, R. V., Nataraju, A., Mohamed, R., Shivaprasad, H. V., & Vishwanath, B. S. (2009). Anti-inflammatory activity of oleanolic acid by inhibition of secretory phospholipase A2. *Planta Medica*, 75(3), 211–215. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088374>
- Dunn, I. A. N. S., Liberato, D. J., Castagnoli, N., & Byers, V. S. (1982). Contact Sensitivity to Urushiol : Role of Covalent Bond Formation '. *Cellular Immunology*, 74, 220–233.
- Egea, E., Garavito, G., & Iglesias, A. (1998). Modulación de la síntesis de citocinas. ¿Es un fenómeno dependiente del sistema HLA? *Salud Uninorte*, 13(1), 12–22.
- Enciso, E., & Arroyo, J. (2011). Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de Jungia rugosa Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *Anales de La Facultad de Medicina*, 72(4), 231–237.
- Fernández, A., Álvarez, A., García, M. D., & Sáenz, M. T. (2001). Anti-inflammatory effect of Pimenta racemosa var. ozua and isolation of the triterpene lupeol. *Il Farmaco*, 56(4), 335–338. [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01080-1](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01080-1)
- Ferreira, C. A. A., Fuentes, E. F., & Ramírez, D. G. (2004). *Síndrome de Cushing secundario a aplicación tópica de esteroides*. 49.
- Filella, X., Molina, R., & Ballesta, A. (2002). Estructura y función de las citocinas. *Revista Médica Integral*, 39(2), 47–88. <https://doi.org/0210-9433>
- Florez, J., Armijo, J. A., & Mediavilla, A. (2014). *Farmacología Humana* 6ª edición. Barcelona, España. Elsevier.
- García, P. (2008). Inflamación. *Revista Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 102(1), 91–159.
- Gioanetto, F., & Blas Cacari, M. (1998). *Etnobotánica y herbolaria p'urepecha*.

- BIOAGRICOOP. <http://bioagricoop.mx.tripod.com/etnobotanica.pdf>
- Gómez, H. A., González, K. N., & Medina, J. D. (2011). Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(3), 182–217. <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L370460507>
- Gómez, I. C., Sánchez, L., Morales, M. Al., & Vázquez, M. (2017). Diagnóstico y tratamiento de Dermatitis por Contacto en adultos. In *Guía de Práctica Clínica*. <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/560GER.pdf>
- González, L. M. (2014). Alergias y el sistema inmune: una revisión desde el aula. *Revista Facultad de Ciencias de La Salud UDES*, 1(1), 43–51. <https://doi.org/10.20320/rfcsudes.v1i1.200>
- Guillamón, E. (2018). Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars Pharm*, 59(3), 185–196. <https://doi.org/10.30827/ars.v59i3.7479>
- Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2016). Guyton & Hall: Tratado de fisiología médica 13ª edición. Barcelona, España. Elsevier.
- Holanda Pinto, S. A., Pinto, L. M. S., Cunha, G. M. A., Chaves, M. H., Santos, F. A., & Rao, V. S. (2008). Anti-inflammatory effect of α , β -Amyrin, a pentacyclic triterpene from *Protium heptaphyllum* in rat model of acute periodontitis. *Inflammopharmacology*, 16(1), 48–52. <https://doi.org/10.1007/s10787-007-1609-x>
- Iglesias, S. (2016). Los antiguos médicos purépecha: los Xurimecha. México. Komoni. Recuperado de <https://komoni.chemisax.com/los-antiguos-medicos-purepecha-los-xurimecha/>
- Jimenez Silva, Á. (2003). Medicina Tradicional. In *Boletín CONAMED-OPS* (pp. 30–35). <https://doi.org/10.1046/j.1468-2982.1983.0301031.x>
- Johansen, J. D., Aalto-Korte, K., Agner, T., Andersen, K. E., Bircher, A., Bruze, M., Cannavò, A., Giménez-Arnau, A., Gonçalo, M., Goossens, A., John, S. M., Lidén, C., Lindberg, M., Mahler, V., Matura, M., Rustemeyer, T., Serup, J., Spiewak, R., Thyssen, J. P., ... Uter, W. (2015). European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - Recommendations on best practice. *Contact Dermatitis*, 73(4), 195–221. <https://doi.org/10.1111/cod.12432>
- Kanji, S., & Chant, C. (2010). Allergic and hypersensitivity reactions in the intensive care unit. *Critical Care Medicine*, 38(6), 162–168. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181de0c99>
- Khanra, R., Dewanjee, S., Dua, T. K., & Bhattacharjee, N. (2017). Taraxerol, a pentacyclic triterpene from *Abroma augusta* leaf, attenuates acute inflammation via inhibition of NF- κ B signaling. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 88, 918–923.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.132>

- Kostner, L., Anzengruber, F., Guillod, C., Recher, M., Schmid-Grendelmeier, P., & Navarini, A. A. (2017). Allergic Contact Dermatitis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 37(1), 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2016.08.014>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster J. C. (2015) Patología estructural y funcional 9ª edición. Barcelona, España. Elsevier
- Latorre, N., Silvestre, J. F., & Monteagudo, a. F. (2011). Dermatitis de contacto alergica por formaldehido y liberadores de formaldehido. *Actas Dermo-Sifiliograficas*, 102(2), 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2010.09.004>
- León, M. L., Alvarado, A., De Armas, J. O., Miranda, L., Varens, J. A., & Cuesta del Sol, J. Á. (2016). Respuesta inflamatoria aguda . Consideraciones bioquímicas y celulares. *Revista Finlay*, 5(1), 47–62.
- Lezama, P. (2006). Rol de quimiocinas y sus receptores en la inflamación. *Revista Médica Vallejana*, 3(2), 133–139. <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rmv/v03n2/pdf/a09v03n2.pdf>
- Lezama, P. (2015). Importancia del Sistema de Complemento. *Rev. Med. Vallejana*, 4(1), 68–78. [https://doi.org/10.1016/S1569-9048\(02\)00183-0](https://doi.org/10.1016/S1569-9048(02)00183-0)
- Lopes, A., Fachine, J., Sobral, M., Formiga Melo, M. de F., Filgueiras, P., & Barbosa, J. M. (2011). Anti-inflammatory activity of alkaloids: An update from 2000 to 2010. *Molecules*, 16(10), 8515–8534. <https://doi.org/10.3390/molecules16108515>
- López, C. B., Kalergis, A. M., Becker, M. I., Garbarino, J. A., & De Ioannes, A. E. (1998). CD8+ T cells are the effectors of the contact dermatitis induced by urushiol in mice and are regulated by CD4+ T cells. *International Archives of Allergy and Immunology*, 117(3), 194–201. <https://doi.org/10.1159/000024010>
- López, N., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud. *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria*, 32(3), 81–91.
- Loyola, V. M., Sánchez, P., Canto, B., Gutiérrez, L. C., Galaz, O., & Moreno, R. M. (2004). Biosíntesis de los alcaloides indólicos: Una revisión crítica. *Revista de La Sociedad Química de México*, 48(Figura 1), 67–94.
- Ludeña, M. A. (2018). Método preparativo para la obtención de ácido ursólico a partir de *Clinopodium revolutum* Preparative method to obtain ursolic acid from *Clinopodium revolutum* Método preparativo para a obtenção do ácido ursólico a partir de *Clinopodium revolutum* Resumo Res. *Revista Colombiana de Química*, 47(1), 10–15. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v47n1.65375>
- Martínez, S., González, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutricion Hospitalaria*, 17(6), 271–278. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12514919>

- Meister, K. K. (2007). Hiedra Venenosa. In *Michigan State University Extension* (p. 4).
- Melo, C. M., Morais, T. C., Tomé, A. R., Brito, G. A. C., Chaves, M. H., Rao, V. S., & Santos, F. A. (2011). Anti-inflammatory effect of α,β -amyrin, a triterpene from *Protium heptaphyllum*, on cerulein-induced acute pancreatitis in mice. *Inflammation Research*, 60(7), 673–681. <https://doi.org/10.1007/s00011-011-0321-x>
- Moreno, M. V. (2008). Dermatitis por *Toxicodendron striatum*. *Acta Med Colomb*, 33(3), 135–138.
- Pascual, D., Pérez, Y. E., Morales, I., Castellanos, I., & González, E. (2014). Historia de la Medicina: Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. *Revista Médica de Santiago de Cuba*, 18(10), 1444–1451.
- Pastorello, M., Ciangherotti, C. E., Colman, T., Amesty, Á., Buitrago, D., & Israel, A. (2007). Actividad antiinflamatoria del ácido 3-epi-ursólico y docking a la fosfolipasa A2. *Revista Facultad de Farmacia*, 70(1), 47–52. <https://www.researchgate.net/publication/318768856>
- Patel, S., & Rauf, A. (2018). Oleoresin urushiol: Can its immunogenicity be exploited for healthcare? *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 104(September 2017), 851–853. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.087>
- Pavillard Rodríguez, L. E. (2019). *El complejo inflammasoma en la inflamación y daño cardíaco inducidos por las dietas hipercalóricas*. <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/82171>
- Pavón, L., Jiménez, M. C., & Garcés, M. E. (2016). Inmunología molecular, celular y traslacional. Barcelona, España. Wolters Kluwer.
- Pérez-Alonso, N., & Jiménez, E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal*, 11(4), 195–211. <https://doi.org/10.1109/ICGCIOT.2015.7380510> M4 - Citavi
- Philipov, S., Istatkova, R., Ivanovska, N., Denkova, P., Tosheva, K., Navas, H., & Villegas, J. (1998). Phytochemical Study and Antiinflammatory Properties of *Lobelia laxiflora* L. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 53(5–6), 311–317. <https://doi.org/10.1515/znc-1998-5-603>
- Pichler, W. J., Adam, J., Daubner, B., Gentinetta, T., Keller, M., & Yerly, D. (2010). Drug Hypersensitivity Reactions: Pathomechanism and Clinical Symptoms. *Medical Clinics of North America*, 94(4), 645–664. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2010.04.003>
- Posadas, S. J., & Pichler, W. J. (2007). Delayed drug hypersensitivity reactions - New concepts. *Clinical and Experimental Allergy*, 37(7), 989–999. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02742.x>
- Prieto, S., Garrido, G., González, J., & Molina, J. (2004). Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(November), 19–33. <https://doi.org/10.1057/palgrave.ejis.3000526>

- Rodriguez, L., Rodriguez de Alba, M., & Panadero, F. (2015). Reacciones de hipersensibilidad. *Elsevier, Tabla* 2, 11. http://eusalud.uninet.edu/apuntes/tema_12.pdf
- Rodríguez, M., & Espinosa, F. (2016). Uso de glucocorticoides sistémicos en Pediatría: generalidades. *Acta Pediátrica de Mexico*, 37(6), 349–354. <https://doi.org/10.18233/apm37no6pp349-354>
- Rodríguez Vázquez, E. (2015). *Actividades biológicas de extractos de plantas y de sus combinaciones*. 319.
- Romero, J. G., Quirino, R. A., & Canteros, G. E. (2007). Reacciones de hipersensibilidad. *Revista de Posgrado de La Via Cátedra de Medicina*, 167, 11–16.
- Romero, L. A. (2003). Dermatitis reaccionales. *Rev Fac Med UNAM*, 46(4), 148–151. <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un034h.pdf>
- Ruas, P. M., Vanzela, A. L. L., & Vieira, O. S. (2001). Karyotype studies in Brazilian species of *Lobelia* L., subgenus *Tupa* (Campanulaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 24(3), 249–254. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042001000300002>
- Rzedowski, J., & Calderón, G. (1997). Campanulaceae. *Flora Del Bajío y de Regiones Adyacentes*, 58, 64. <https://doi.org/10.1348/014466506x128287>
- Rzedowski, Jerzy, & Calderón, G. (1999). Anarcadiaceae. *Flora Del Bajío y de Regiones Adyacentes*, 78, 1–52.
- Salinas, J. (2012). Mecanismos de daño inmunológico. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(4), 458–463. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(12\)70336-X](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(12)70336-X)
- Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, M. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355–363. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221317>
- Serra, H. A., Roganovich, J. M., & Rizzo, L. F. L. (2012). Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. *Medicina*, 72(2), 158–170.
- Stolom, S., Oyemitan, I. A., Matewu, R., Oyedeji, O. O., Oluwafemi, S. O., Nkeh-Chungag, B. N., Songca, S. P., & Oyedeji, A. O. (2016). Chemical and biological studies of *Lobelia flaccida* (C. Presl) A.DC leaf: A medicinal plant used by traditional healers in Eastern Cape, South Africa. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(8), 1715–1721. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i8.17>
- Stratton, E. K. (1939). Poison oak and poison ivy. *The Journal of Allergy*, 591–599.
- Tan, C. H., Rasool, S., & Johnston, G. A. (2014). Contact dermatitis: Allergic and irritant. *Clinics in Dermatology*, 32(1), 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.05.033>
- Toledo, L. (2014). Inflamacion: Mediadores Quimicos. *Revista de Actualización Clínica*, 43,

2269. http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/raci/v43/v43_a05.pdf
- Torres, D. C., & Cavaleiro, L. (2015). Chemokines and immunity. *Einstein (São Paulo)*, 13(3), 469–473. <https://doi.org/10.1590/s1679-45082015rb3438>
- Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(3), 147–157. <https://doi.org/10.1007/s10311-006-0068-8>
- Uzzaman, A., & Cho, S. H. (2012). Classification of hypersensitivity reactions. *Allergy and Asthma Proceedings*, 33(3), 96–99. <https://doi.org/10.2500/aap.2012.33.3561>
- Valares Masa, C. (2011). *Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente*.
- Vasconcelos, J. F., Teixeira, M. M., Barbosa-Filho, J. M., Lúcio, A. S. S. C., Almeida, J. R. G. S., de Queiroz, L. P., Ribeiro-dos-Santos, R., & Soares, M. B. P. (2008). The triterpenoid lupeol attenuates allergic airway inflammation in a murine model. *International Immunopharmacology*, 8(9), 1216–1221. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.04.011>
- Vega Robledo, G. B. (2010). Citocinas. *Rev Fac Med UNAM*, 53(2), 94–95. <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2010/un102j.pdf>
- Vergara, C. I., Martínez, B. M., & Caraballo, L. R. (1994). Las moléculas de adhesión y la respuesta inmune. *Biomédica*, 14(3), 172–179. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v14i3.2101>
- Viesca, C. (2017). *Medicina del Mexico antiguo* (Vol. 91, pp. 399–404).
- Villalba, E. E. (2014). Inflamación I. *Revista de Actualización Clínica*, 43(1), 2261–2265.
- Villamizar, V. E. M., Caballero, J. M. Á., & Gómez, H. S. (2010). Terpenos con actividad biológica anti-VIH. *Duazary*, 72(2), 257.
- Wang, X., Gong, Y., Zhou, B., Yang, J. jie, Cheng, Y., Zhao, J. guo, & Qi, M. you. (2018). Ursolic acid ameliorates oxidative stress, inflammation and fibrosis in diabetic cardiomyopathy rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 97, 1461–1467. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.032>
- World Health Organization. (1997). *Drugs used in skin diseases*.
- Wu, C. R., Hseu, Y. C., Lien, J. C., Lin, L. W., Lin, Y. T., & Ching, H. (2011). Triterpenoid contents and anti-inflammatory properties of the methanol extracts of Ligustrum species leaves. *Molecules*, 16(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules16010001>
- Zuluaga, M., Ramírez, A., Palacio, A., Botero, J. F., & Clavijo, A. (2017). Síndrome de Cushing exógeno e insuficiencia adrenal relacionada con consumo de producto natural. *Acta Médica Colombiana*, 42(4), 243–246. <https://doi.org/10.36104/amc.2017.1006>

11. BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

- Anónimo. (S.F.) Dermatitis de Contacto Alérgica para Dermatitis Ocupacional: Dermatitis de contacto alérgica. En Colombia. Recuperado de <https://encolombia.com/medicina/guiasmed/dermatitis/dermatitis-contacto/>
- Borón, W. F., & Boulpaep, E. L. (2017). Fisiología médica 3ª edición. Philadelphia, USA. Elsevier.
- Braslau, R. (2014). Deactivation of urushiol and method of treatment and prevention of contact dermatitis. Santa Cruz, California, USA. PCT/US13A391.62.
- Cadena, B. (2017). Todo lo que debes saber sobre histología animal. Simple booklet. Recuperado de <https://simplebooklet.com/publish.php?wpKey=hFP1i9DRbdxXEwU34pWnWA#page=0>
- López, N., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Propiedades beneficiosas de los terpenos irioides sobre la salud. Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria, 32(3),81-91. https://www.researchgate.net/publication/285942050_Beneficial_health_properties_of_iridoids_terpenes
- Owen, J. A., Punt, J., Strandford, S. A., & Jones, P.(2014). Kuby Inmunología 7ª edición. Ciudad de México, México. McGraw Hill Education
- Resino, S. (s.f.) Reacciones de hipersensibilidad de tipo II. Epidemiología Molecular de Enfermedades infecciosas. Recuperado de <https://epidemiologiamolecular.com/hsii-reacciones-hipersensibilidad-tipo-ii/>
- Resino, S. (s.f.) Reacciones de hipersensibilidad de tipo III. Epidemiología Molecular de Enfermedades infecciosas. Recuperado de <https://epidemiologiamolecular.com/hsii-reacciones-hipersensibilidad-tipo-iiiv/>
- Taher. Y. A., Henricks, P. A.J., & Van Oosterhout, A. J.M. (2010). Allergen-specific subcutaneous immunotherapy in allergic asthma: immunologic mechanisms and improvement. Libyan Journal of Medicine, 5(5303). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3071166/pdf/LJM-5-5303.pdf>
- Ramesha Thimmappa, R., Geisler, K., Louveau, T., O'Maille, P., & Osbourn, A. (2014). Triterpene Biosynthesis in Plants. Annual Review of Plant Biology, 65(1), 225-257. <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-arplant-050312-120229>
- Velázquez, C., & Fernández de Córdoba, J. C. (2016). Reacciones adversas por hipersensibilidad y desensibilización a fármacos antituberculosos. Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE). Recuperado de <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/micobacteriosis/descargas/pdf/TbSensibilizacion.pdf>