



Evaluación de la actividad de *Baccharis latifolia* en modelos de artritis experimental

Evaluation of *Baccharis latifolia* activity in experimental arthritis models

GUTIERREZ D., MARÍA DEL PILAR¹
 SALGADO, FANNY LIZETH¹
 MAMANI MAYTA, DEYSI DANITZA¹
 SERRUDO JUÁREZ, JORGE ARMANDO¹
 RODRIGUEZ YUJRA, NÉLIDA¹
 GRADOS TORREZ, RICARDO ENRIQUE¹

CORRESPONDENCIA:
 EDUARDO.GONZALEZ@GMAIL.COM

ALMANZA VEGA, GIOVANNA ROCÍO³
 TRINO, RODRIGO DANIEL¹
 ZAMBRANA SANTANDER, SILVIA¹
 ARIAS MIRANDA, JUAN LUIS^{1,2}
 GONZALES DÁVALOS, EDUARDO^{1*}

FECHA DE RECEPCIÓN: 19/09/2016

FECHA DE ACEPTACIÓN: 4/11/2016

Resumen

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónica de naturaleza autoinmune e inflamatoria que conduce a la formación de *pannus* seguido de la destrucción de las articulaciones, se caracteriza por hiperplasia sinovial, inflamación y angiogénesis. La especie vegetal *Baccharis latifolia* es utilizada tradicionalmente en muchas regiones de nuestro país para tratar el dolor, la inflamación y la artritis. En el presente estudio se evaluó la actividad antiartrítica del extracto etanólico de *B. latifolia* en modelos murinos de artritis reumatoide inducida por adyuvante, la estimación del edema/espesor de la pata inflamada, parámetros hematológicos (hemoglobina, velocidad de sedimentación globular, recuento de eritrocitos, recuento total de leucocitos)

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune and inflammatory disease leading to *pannus* formation followed by the destruction of the joints; it is characterized by synovial hyperplasia, inflammation and angiogenesis. The plant species *Baccharis latifolia* is traditionally used in many regions of our country to treat pain, inflammation and arthritis. In the present study the anti-arthritic activity of ethanol extract of *B. latifolia* was evaluated in murine experimental model of rheumatoid arthritis induced by adjuvant, edema estimation / thickness of the inflamed foot, hematological parameters (hemoglobin, erythrocyte sedimentation rate, erythrocyte count was assessed, total white blood cell) and radiological observation were evaluated. The oral admin-

1 Area de Farmacología, Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas "Luis Enrique Terrazas Siles". Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra 2224. La Paz, Bolivia.

2 Carrera de Química Farmacéutica, Fac. Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra 2224. La Paz, Bolivia.

3 Instituto de Investigaciones Químicas, Facultad de Ciencias Puras y Naturales, Universidad Mayor de San Andrés, Calle 27 Cota Cota Campus Universitario. La Paz, Bolivia.

* Autor Correspondencia

y observación radiológica fueron evaluados. La administración oral del extracto etanólico de *B. latifolia* (600 mg/kg de p.c.) inhibió significativamente ($p < 0.001$) el incremento del edema/espesor de la pata en el modelo de artritis subcrónica. Del mismo modo, *B. latifolia* (500 mg/kg de p.c.) inhibió significativamente el incremento del edema/espesor de la pata en el modelo de artritis crónica ($p < 0.05$, $p < 0.01$), los pesos de los animales se mantuvieron sin variación durante el tratamiento. Por otro lado, los parámetros hematológicos señalan que los niveles de hemoglobina disminuyen en ratones artríticos y que esta disminución es revertida tras la administración de los extractos de *B. latifolia*, este mismo perfil de recuperación es observado tras el recuento de glóbulos rojos. Adicionalmente, la velocidad de sedimentación globular (VSG) incrementada en ratones artríticos, es revertida tras la administración de *B. latifolia*. El análisis radiológico evidenció el efecto del extracto etanólico de *B. latifolia* en el retraso de la destrucción ósea. Los resultados sugieren que el extracto etanólico de *B. latifolia* tiene una potencial actividad antiartrítica.

PALABRAS CLAVE

Baccharis latifolia, Actividad antiartrítica, Adyuvante Completo de Freund

istration of the ethanolic extract of *B. latifolia* (600 mg / kg p.c.) significantly inhibited ($p < 0,001$) increased edema / paw thickness in the subchronic model of arthritis. Similarly, *B. latifolia* (500 mg / kg bw) significantly inhibited the increase of edema / paw thickness in the model of chronic arthritis ($p < 0.05$, $p < 0.01$), the weights of the animals were kept without variation during treatment. Moreover hematological parameters indicate that hemoglobin levels decrease in arthritic mice and that this decline is reversed after administration of the extracts of *B. latifolia*, this same profile is observed recovery after red blood cell count. Additionally, erythrocyte sedimentation rate (ESR) increased in arthritic mice is reversed after administration of *B. latifolia*. The radiological analysis showed the effect of ethanol extract of *B. latifolia* in delaying bone destruction. The results suggest that the ethanolic extract of *B. latifolia* has potential antiarthritic activity.

KEY WORDS

Baccharis latifolia, Activity antiarthritic, Complete Freund's adjuvant

INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica, autoinmune, caracterizada por manifestaciones en las articulaciones (dolor, tumefacción y rigidez) y la presencia de síntomas generales (cansancio, sensación de malestar, fiebre ligera, inapetencia y pérdida de peso corporal), afecta aproximadamente al 1% de la población mundial (Deng y col., 2006). La AR es mucho más frecuente en mujeres que en hombres y en general aparece en personas adultas mayores, aunque puede iniciarse en cualquier etapa de la vida, con independencia de la etnia, el sexo y los hábitos de vida. Esta enfermedad se inicia con la inflamación de la membrana sinovial, que con frecuencia lleva a la destrucción erosiva del cartílago adyacente y el hueso, lo que provoca la incapacidad física moderada del 80% de los pacientes y una muerte temprana.

En la actualidad no existe cura para la AR, ni medicamentos que puedan revertir las deformaciones articulares. La terapia empleada consiste funda-

mentalmente en el empleo de analgésicos, medicamentos antiinflamatorios, inmunosupresores y estimulantes, que controlan la sintomatología y enlentecen el curso de la enfermedad, sin embargo los enfermos requieren tratamiento farmacológico de por vida e inevitablemente se tropieza con efectos adversos que limitan la consecución del tratamiento, como es el caso de los efectos secundarios producidos a nivel gastrointestinal por los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), grupo de fármacos frecuentemente empleados en esta patología. Por esta razón entre un 30 a 60 % de los pacientes con AR recurren a la medicina complementaria, buscando fuentes adicionales de alivio y/o menores efectos secundarios (Nagore y col., 2015).

Baccharis latifolia es una especie vegetal utilizada en la medicina tradicional boliviana en forma de cataplasma como antiinflamatorio, en luxaciones y hernias, en algunas regiones se utilizan las flores y hojas frescas en decocción para el reumatismo, tos y bronquitis; mientras que las hojas secas son utilizadas como desinfectante de heridas (Girault, 1989; Freyre y col., 2007; Abad & Bermejo, 2007; Vandebroek y col., 2003). Trabajos científicos realizados sobre algunas especies del género *Baccharis* reportan actividad antiinflamatoria en modelo de edema de pata (Guyton, 1998; Gonzales, 1998, 2007; Hoyos, 2008); actividad gastroprotectora y actividad analgésica. (Gonzales, 2000; Wachter 1998); actividad sobre prostaglandinas PGE₂, ciclooxigenasa COX1 y COX2, lipooxigenasa 5-LOX, óxido nítrico NO y factor de necrosis tumoral TNF (Abad y col., 2006). Los resultados obtenidos del estudio de extractos etanólicos de *B. latifolia* enriquecidos con flavonoides presentaron un efecto antiinflamatorio y analgésico frente al control indometacina en modelos murinos (Gonzales E y Apaza D., 2011).

En el presente estudio se evaluó la actividad antiartrítica del extracto etanólico de *B. latifolia* en modelos sub-crónico y crónico de artritis reumatoide inducida por Adyuvante Completo de Freund (con y sin carragenina) en animales de experimentación, mediante la estimación del edema/espesor en milímetros de la pata inflamada, parámetros hematológicos (hemoglobina, velocidad de sedimentación globular, recuento de eritrocitos, recuento total de leucocitos) y observación radiológica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Vegetal

Las hojas de la especie vegetal *Baccharis latifolia* (Asteraceae) fueron colectadas en octubre de 2014 en la zona de Apaña (3.800 m.s.n.m) localizada en las afueras de la ciudad de La Paz, Bolivia. La identificación botánica se realizó por la Lic. Esther Valenzuela experta del Jardín Botánico del Herbario Nacional de Bolivia LPB, donde se puede encontrar un ejemplar de la misma.

Obtención del extracto

El extracto etanólico fue obtenido en el Laboratorio de Bioorgánica del Instituto de Investigaciones Químicas de la UMSA. Las partes aéreas de la especie

en estudio fueron secadas y molidas dando un total de 864 g. Este material vegetal fue sometido a una extracción por maceración, a temperatura ambiente, con EtOH de 96° durante 15 minutos, obteniendo un extracto que fue concentrado por rotaevaporación hasta eliminación completa del solvente, dando 102 g de extracto crudo, con un rendimiento del 11,8 % respecto a la planta seca.

Animales de Experimentación

El estudio se realizó con ratones machos Swiss con un peso de (22±5g) obtenidos del Bioterio de la Facultad de Cs. Farmacéuticas y Bioquímicas UMSA y del Bioterio de Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA). Todos los animales fueron mantenidos en cajas de polipropileno en una habitación con temperatura controlada a 23±1°C con un ciclo de 12 horas luz/12 horas oscuridad. Los animales fueron alimentados *ad libitum* con una dieta normal y aclimatados durante una semana antes de comenzar el experimento.

Evaluación de la actividad antiartrítica inducida por Adyuvante Completo de Freund y Carragenina (A-ACF+C)

Para inducir la artritis sub-crónica se administró por vía intradérmica, en la porción inferior de la base de la cola, a todos los grupos 0,1 ml de Adyuvante Completo de Freund (ACF), y se dejó a los animales en observación por seis días. Posterior a este tiempo, se midió el espesor plantar inicial de todos los animales y luego al grupo control artrítico se administró 0,1 ml/10g de agua, al segundo grupo se administró por vía oral indometacina a una dosis de 3mg/kg de peso corporal, al tercer grupo se administró por vía oral el extracto etanólico de *B. latifolia* en una dosis de 600 mg/kg; después de transcurrida una hora se administró 0,1 ml de carragenina (3% p/v en solución salina) en la aponeurosis subplantar a todos los grupos, posterior a esta administración, se midió el espesor de la pata de todos los grupos a las 0h, 3h, 5h, 24h, 48h, 72h, 96h con un Vernier digital. (Choudhary y col., 2014; Liu y col., 2009). El extracto, la indometacina y el vehículo se administraron diariamente durante 5 días, para evaluar la actividad antiartrítica subcrónica.

Evaluación de la actividad antiartrítica inducida por Adyuvante Completo de Freund (A-ACF):

Evaluación del peso y espesor de la pata

Los animales fueron divididos en cinco grupos de diez animales cada uno, a cada grupo se le hizo el seguimiento de peso durante todo el desarrollo de la experimentación. La artritis crónica fue inducida por la inyección de 0.01 ml de Adyuvante Completo de Freund (10 mg de *Mycobacterium tuberculosis* muertas por calor en 1 ml de aceite de parafina) en la pata derecha de los animales vía intradérmica, excepto a los animales del grupo control normal. Después de 21 días de la inyección con ACF, los tratamientos fueron administrados vía oral a los diferentes grupos por 21 días más. Los grupos forma-

dos fueron: grupo I ratones normales tratados con agua (Control); grupo II: ratones artríticos tratados con indometacina (2 mg/Kg/día); grupo III: ratones artríticos tratados con extracto de *B. latifolia* (500 mg/Kg/día); grupo IV: ratones artríticos tratados solo con agua (control artrítico). El extracto y la indometacina fueron disueltos en vehículo (0,5% de carboxi metil celulosa, 0,9% de cloruro de sodio y 97,2% de agua). El edema/espesor de la pata se midió con un Vernier digital antes de la inducción, antes del tratamiento, después del tratamiento por un periodo total de 6 semanas (Koch y col., 1998; Newbould, 1965).

Valoración macroscópica de la artritis

Se realizó a través de la observación macroscópica de la hinchazón/formación del edema en la pata de los animales de experimentación y se evaluó mediante la siguiente escala de puntos: 0 = ninguna formación o hinchazón/edema; 1 = muy leve; 2 = leve; 3 = moderada; 4 = grave, el día 21 y el día 42 antes y después del tratamiento.

Parámetros hematológicos

Al finalizar el experimento se recogió la sangre con y sin heparina para someterla a separación del suero y realizar la estimación de parámetros hematológicos tales como hemoglobina, glóbulos blancos (WBC), glóbulos rojos (RBC) y velocidad de sedimentación (VSG). (Tietz, 2006).

Observación radiológica

Las radiografías fueron tomadas en el Servicio de Radiología e Imagenología de la Facultad de Odontología de la Universidad Mayor de San Andrés, mediante un equipo radiográfico (Focus 70 Kvp), bajo la coordinación de los doctores Mirian Quiroga Ch., Neil Gonzales y Richard Ramos.

Análisis estadístico

Los resultados se presentan como media \pm SEM. La diferencia estadística entre los grupos se realizó mediante análisis de una vía de la varianza (ANOVA). La diferencia en los valores de $p < 0,05$; $0,01$; $0,001$ fueron considerados significativos. Los datos fueron analizados utilizando Graph Pad InStat Software (CA, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la actividad antiartrítica inducida por Adyuvante Completo de Freund y carragenina en la pata (A-ACF+C)

En la figura 1 se muestran los resultados de la actividad antiartrítica del extracto etanólico de *B. latifolia* a una dosis de 600 mg/kg de peso corpo-

ral a través de la medición del edema/espesor de las patas de los animales de experimentación durante 96 horas de tratamiento. La actividad antiartrítica subcrónica frente al control artrítico fue significativa ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) en todas los tiempos evaluados (0, 1, 3, 5, 24, 48, 72 y 96 horas). El patrón indometacina mostro también una disminución significativa frente al grupo control, siendo esta actividad de manera general mayor comparada frente al grupo del extracto.

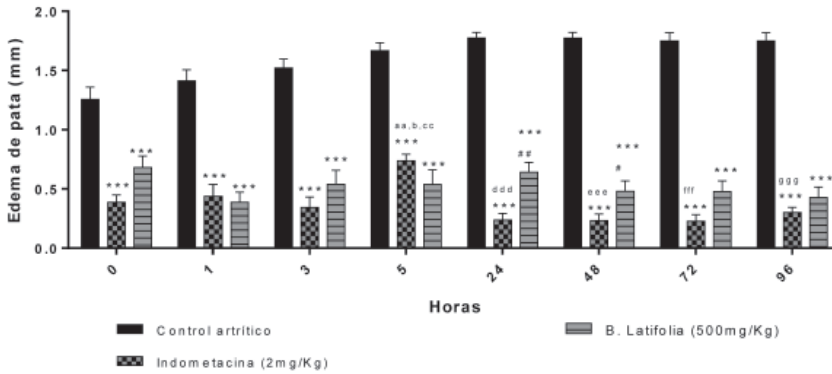


Figura 1. Efecto de *B. latifolia* en el incremento del edema de las patas de animales de experimentación. Los valores se dan como la media \pm S.E.M. (n= 10). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas comparadas con el grupo control artrítico en la misma hora evaluada, el dígito numeral "#" indican las diferencias significativas entre *B. latifolia* e indometacina en la misma hora evaluada. Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos a diferentes horas. La letra "a" indica la diferencia entre el grupo a las 0 horas y el grupo a las 5 horas, "b" indica 1 vs 5, "c" indica 3 vs 5, "d" indica 5 vs 24, "e" indica 5 vs 48, "f" indica 5 vs 72, "g" indica 5 vs 96 horas, todas determinadas por comparación múltiple de Tukey ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$)

El edema de pata inducido por carragenina produce una respuesta en tres fases en función del tiempo y esta se correlaciona con la respuesta inflamatoria en el hombre. El incremento del edema/espesor de la pata en la primera hora después de la administración de la carragenina se relaciona con el aumento en la permeabilidad vascular inducida por la histamina, seguida de la acción de la serotonina y cininas durante la segunda y tercera hora, el edema a las cuatro y seis horas se relaciona con la liberación de prostaglandinas y leucotrienos (Nair y col., 2012). Los resultados muestran un mayor efecto de la indometacina a partir de las 4 horas después de su administración debido a su actividad principal sobre la síntesis de prostaglandinas. El extracto etanólico de *B. latifolia* produjo una reducción significativa de la inflamación frente al control artrítico a una dosis de 600 mg/kg desde la primera hora después de su administración, lo que sugiere que este extracto podría presentar actividad frente a diferentes mediadores de la inflamación. Por otro lado el edema/espesor de la pata medida a las 48, 72 y 96 horas después de la inyección de la carragenina se relaciona principalmente a la actividad mediada por los macrófagos; observándose en el grupo control artrítico una marcada diferencia de edema/espesor de la pata comparada con la fase inicial.

Evaluación de la actividad antiartrítica inducida por Adyuvante Completo de Freund (A-ACF): Evaluación del peso, edema de la pata y valoración macroscópica de la artritis

Evaluación del peso

En la figura 2 se muestran los resultados de la evaluación del extracto de *B. latifolia* sobre los pesos mediante el modelo de inducción de artritis por ACF después de tres semanas de administración del extracto etanólico de *B. latifolia*.

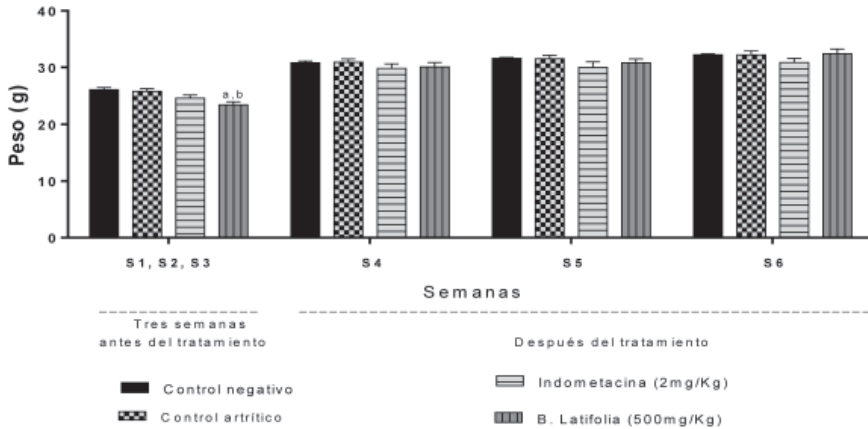


Figura 2. Efecto de *B. latifolia* en el peso de animales de experimentación. Los valores se dan como la media \pm S.E.M. (n= 10). La barra marcada con la letra "a" indica la diferencia con el grupo control negativo en la misma semana, la barra marcada con la letra "b" indica la diferencia con el grupo de la indometacina, todas por comparación múltiple de Tukey ($p < 0.05$).

En las tres primeras semanas de inducción de la artritis los pesos no aumentaron de manera significativa para todos los grupos, desde la cuarta semana se observa un aumento significativo en todos los grupos respecto del peso de las tres primeras semanas antes del tratamiento. En el grupo control artrítico, el grupo tratado con indometacina y el grupo tratado con *B. latifolia* los pesos se mantuvieron constantes durante las tres semanas de tratamiento y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Lo que se esperaría es que los pesos de los animales evaluados aumenten gradualmente según van creciendo y aumentan de tamaño, pero durante el transcurso de la enfermedad los pesos disminuyen, posiblemente debido a la falta de apetito correlacionada por el dolor y la inflamación que imposibilita el movimiento de los animales de manera normal, sin embargo con la administración de la indometacina y el extracto de *B. latifolia* se observa una tendencia a mantener sin variación el peso en todos los grupos.

Evaluación del edema/espesor de la pata

El extracto de *B. latifolia* presentó diferencia significativa frente al control artrítico a partir de la primera semana de su administración al igual que la indometacina que presentó un mayor efecto en la quinta y sexta semana. En la quinta y sexta semana hubo una disminución de la inflamación por el extracto de *B. latifolia* pero esta fue menor que en la cuarta de administración que se observó una disminución mayor del edema/espesor de las patas. En la quinta

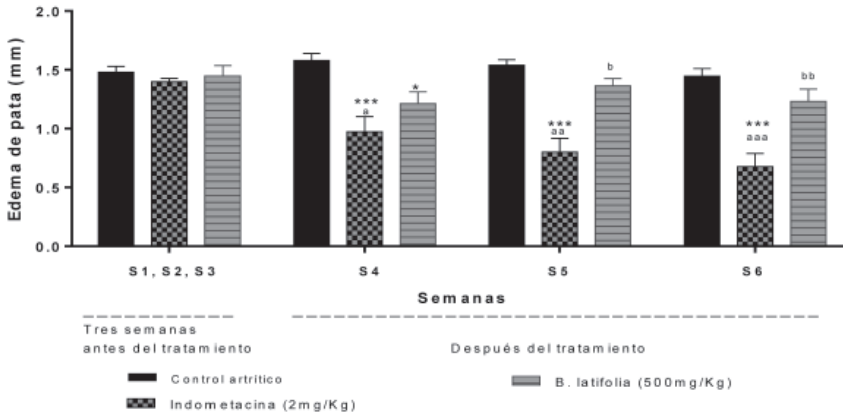


Figura 3. Efecto de *B. latifolia* en el incremento del edema de las patas de animales de experimentación. Los valores se dan como la media \pm S.E.M. (n=10). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas comparadas con el grupo control artrítico en la misma semana evaluada, la letra "a" indica diferencias estadísticamente significativas con el mismo grupo de la primera semana, la letra "b" indica diferencias estadísticamente significativas con el control positivo (indometacina) de la primera semana, todas determinadas por comparación múltiple de Tukey ($p < 0.05$, $p < 0.01$ y $p < 0.001$)

y sexta semana hubo una significativa disminución de la inflamación con indometacina comparada con la primera y segunda semana de tratamiento (Figura 3), el extracto etanólico de *B. latifolia* tiene un efecto antiartrítico significativo en la cuarta semana a la dosis de 500 mg/Kg de peso corporal.

Valoración macroscópica de la artritis

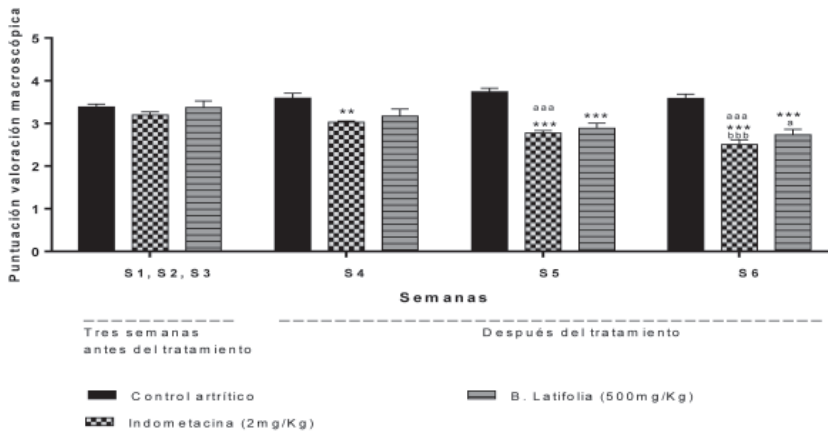


Figura 4. Efecto de *B. latifolia* en la valoración macroscópica de las patas de los animales de experimentación. Los valores se dan como la media \pm S.E.M. (n=10). Las barras marcadas con "*" indican diferencias estadísticamente significativas con el grupo control artrítico en la misma semana evaluada. La barra marcada con la letra "b" indica la diferencia estadísticamente significativa con el grupo de la segunda semana, las barras marcadas con "a" indican la diferencia con el mismo grupo de la primera semana, todas determinadas por comparación múltiple de Tukey ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$)

La tasa de inhibición en la artritis (Figura 4) con una dosis diaria del extracto de *B. latifolia* de 500 mg/kg de peso corporal fue significativamente similar al control positivo indometacina en la puntuación macroscópica del edema/espesor de las patas, observándose una disminución mayor en el edema/espesor en la última semana de tratamiento.

Los principios fitoquímicos presentes en *B. latifolia* son flavonoides y compuestos fenólicos simples, entre ellos la acacetina, luteonina, 7,4'-dimetoxikaempferol, 7,4'-dimetoxiapigenina, rhamnazina, 7,3',4'-trimetoxiquercetina 4'-metoxirhamnazina, 5,4'-dimetoxiapigenina, acacetina 4'-metoxiapigenina, 7-metoxiquercetina, 7,3',4'-trimetoxiluteolina (Flores y col., 2011), también se reportó la presencia de ocho compuestos, un derivado prenilado de ácido cumárico, tres triterpenos tipo ent-labdano y cuatro sesquiterpenos (Zdero y col., 1989). Al estudiarse la composición del aceite esencial de *B. latifolia* se encontró la presencia del limoneno que ha reportado reducir la inflamación inducida por lipopolisacárido y tiene efecto en la producción de óxido nítrico, del γ -interferón, y de la IL-4 (Souza y col., 2003). Por otra parte los flavonoides luteolina y acacetina, presentes en *B. latifolia* presentan actividad antiinflamatoria en ratones inducidos con ACF (López y Lázaro 2009, Pinzo y col., 2011, Pan y col., 2006).

La artritis producida por adyuvante es un modelo experimental de poliartrosis, que produce inflamación poliarticular, marcada resorción ósea y proliferación perióstica. La inyección en la almohadilla plantar de la pata permite el estudio de la reacción inflamatoria aguda en esa área, así como la reacción inmunológica que se desarrolla aproximadamente en nueve días (Chang, 1980). El ACF induce una respuesta principalmente celular, estimula la respuesta inmune innata y particularmente la presentación antigénica por las células dendríticas que han recibido señales de carbohidratos y glicolípidos de la mico bacteria a través de sus receptores tipo Toll (De Gregorio y col., 2009). Los macrófagos, células T y fibroblastos sinoviales son agentes importantes en la AR, los macrófagos son células secretoras de mediadores de la inflamación, incluyendo proinflamatorias y citotóxicas. En los modelos denominados (A-ACF+C) y (A-ACF) se produce la liberación de diferentes mediadores y una actividad mediada principalmente por macrófagos, probablemente el extracto de *B. latifolia* interfiere en la activación de linfocitos T y/o macrófagos debido a la presencia de los flavonoides acacetina y luteolina.

Parámetros hematológicos

Los parámetros hematológicos evaluados en animales de experimentación fueron: la hemoglobina, recuento de glóbulos rojos (RGR), velocidad de eritrosedimentación (VES) y recuento de glóbulos blancos (RGB). Los cambios hematológicos asociados con la artritis se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Efecto de *B. latifolia* sobre los parámetros hematológicos en ratones de experimentación

GRUPOS	Hemoglobina	RGR	RGB	Velocidad de eritrosedimentación
				60 min
Control negativo	17,391 ± 0.2785	6.324 ± 0.1013	5.090 ± 0.6871	0.96 ± 0.02667
Control artrítico	15,43 ± 0,36**	5,61 ± 0,13**	9,13 ± 1,52***	2.25 ± 0.16***
Indometacina	17.380 ± 0.4569	6.320 ± 0.1661	4.444 ± 0.4424*	0 ± 0
<i>B. latifolia</i>	19.141 ± 0.4585*	6.924 ± 0.1816*	6.920 ± 1.016*	1 ± 0

Los resultados obtenidos fueron comparados con los valores hematológicos obtenidos en ratones sanos (control negativo), en ratones artríticos (ratones no tratados) y en ratones artríticos tratados con indometacina (fármaco control). Éstos resultados señalan que los niveles de hemoglobina disminuyen en ratones artríticos y que esta disminución es revertida tras la administración de los extractos de *B. latifolia*. Éste mismo perfil de recuperación es observado tras el recuento de glóbulos rojos. Por otro lado, la VSG se incrementa en ratones artríticos, este parámetro también es revertido tras la administración de *B. latifolia*, sin embargo el extracto no produce un cambio en la VSG que alcance los valores normales obtenidos en ratones sanos. En el caso del recuento de glóbulos blancos, se observa un incremento en el número de glóbulos blancos en ratones artríticos, pero tras la administración del extracto los glóbulos blancos se incrementan aún más, este fenómeno podría deberse a algún tipo de reacción inmunológica producida por el extracto en los ratones.

Observación radiológica

Los cambios radiológicos fueron observados en los animales de experimentación antes y después del tratamiento en un equipo Focus de 70 Kvp. Las imágenes fueron leídas de forma independiente en puntuaciones de moda registradas de 0 a 5 de acuerdo con la destrucción de huesos y articulaciones. (Delgado M, 2005).

Las imágenes radiológicas (Figura 5 A, B, C, D) muestran la pata artrítica inflamada, con deformación y desviación de las articulaciones a nivel de las falanges y el metacarpo comparadas frente al grupo control negativo, en la imagen de la pata del ratón tratado con indometacina se observa una reducción en la inflamación y deformación de la articulación del metacarpo y falanges, con *B. latifolia* se observa una mejora en las articulaciones y una disminución de la inflamación excepto a nivel de las terminaciones de las falanges, comparada con al grupo control artrítico.

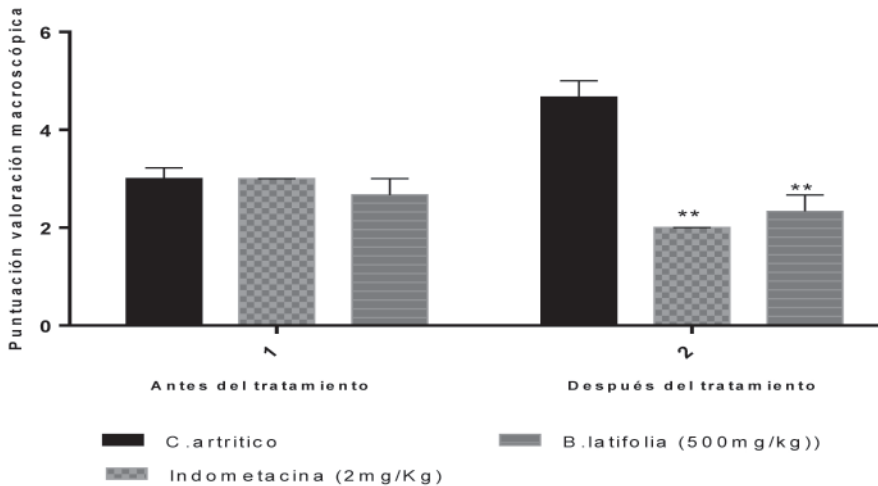
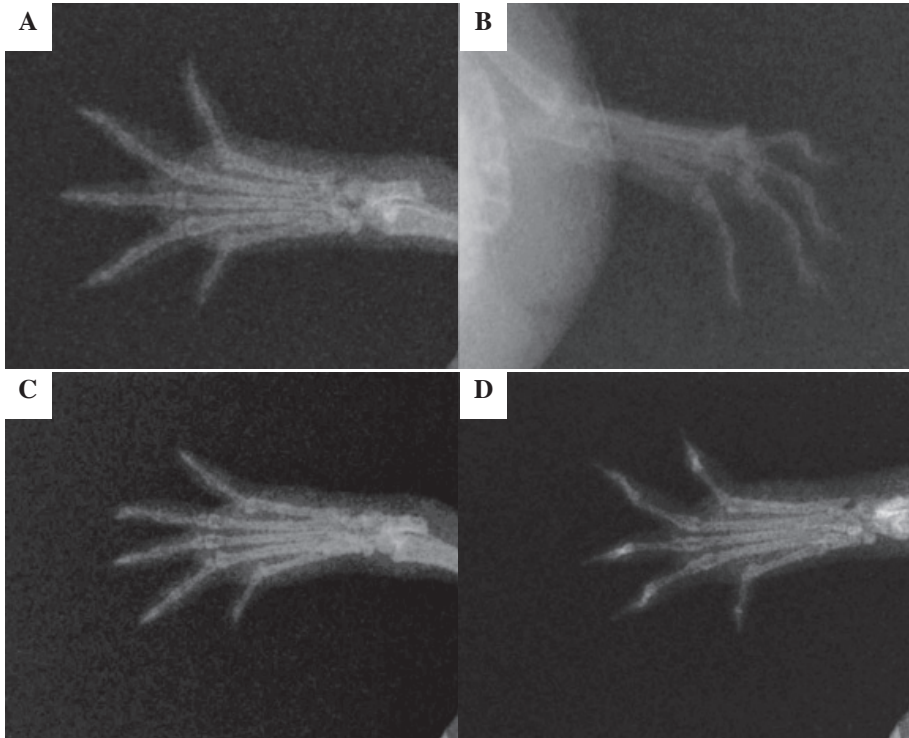


Figura 5. Efecto de *B. latifolia* sobre los cambios radiográficos en ratones artríticos inducidos con adyuvante completo de Freund (ACF). A. Grupo control normal B. Grupo control artrítico. C. Grupo artrítico tratado con indometacina. D. Grupo artrítico tratado con extracto de *B. latifolia*. E. Calificación de la valoración patológica (media \pm SEM). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas con el control artrítico en la misma semana ($p < 0.01$)

CONCLUSIONES

En este estudio, el efecto del extracto etanólico de *B. latifolia* fue evaluado en modelos de artritis experimental inducida por ACF, observándose que a una dosis diaria de 500 y 600 mg/kg, disminuyó significativamente el edema/espesor de la pata de los animales artríticos; en las placas radiológicas se observa un retraso de la destrucción del hueso, y los resultados hematológicos fortalecen el efecto presentado por el extracto *B. latifolia* respecto de los resultados mostrados frente al grupo control artrítico y control negativo. Por lo tanto podemos concluir que el extracto etanólico de *B. latifolia* se constituye en una especie potencial como tratamiento alternativo y/o coadyuvante de la artritis.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias al financiamiento otorgado al proyecto UMSA-IDH "Estudios de producción y mecanismos de acción de componentes activos de *Baccharis latifolia* (chilca) para el desarrollo de un producto fitoterapéutico contra inflamaciones crónicas" desarrollado dentro del convenio de cooperación de los Institutos IIFB e IIQ de la Universidad Mayor de San Andrés a quienes va un especial reconocimiento. Un especial agradecimiento a los doctores Mirian Quiroga Ch., Neil Gonzales y Richard Ramos de la Unidad de Radiología de la Facultad de Odontología de la UMSA por la colaboración prestada a este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, M.J., Bessa, A., Ballarin, B., Aragón, O., Gonzales, E. & Bermejo, P. (2006). Anti-inflammatory activity of four Bolivian *Baccharis* species (Compositae). *J Ethnopharmacol*, 103, 338-44.
- Abad, M.J., Bermejo, P. (2007). *Baccharis* (Compositae): a review update, *ARKIVOC*, 7, 76-96.
- Arend WP. (2001). Cytokine imbalance in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: The role of interleukin-1 receptor antagonist. *Semin Arthritis Rheum*; 30(5 Suppl 2), 1- 6.
- Almanza, G, Salcedo, L. (2011). "De la Planta al Medicamento" Investigaciones de *Baccharis latifolia* (Chilca). La Paz, Bolivia: UMSA.
- American Academy of orthopaedic surgeons (1965). «Joint motion: method of measuring and recording» Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Capel, M., Tornero, J., Zamorano, J. L., Oyangüez, I., Casado, M. A., Sánchez- Covisa, J., Lanás, A. (2014). "Eficiencia de la combinación naproxeno/esomeprazol para el tratamiento de la artrosis en España"; *Reumatol. Clin.*, 10 (4), 210 – 217.
- Chang Y. (1980). Adjuvant polyarthritis. *Arthritis Rheum*, 23, 62-71.
- Choudhary, M., Kumar, V., Gupta, P., Singh, S., (2014). "Investigation of Antiarthritic Potential of *Plumeria alba* L. Leaves in Acute and Chronic Models of Arthritis". *BioMed Research International*. 12.
- Deng, G., Lenardo, M.M., (2006). The role of immune cells and cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Drug Discov*. 3, 163–168.
- De Gregorio, E., U. D'Oro, A. Wack. (2009). Immunology of TLR-independent vaccine adjuvant. *Cur. Op. Immunol*, 21, 339-345.
- Delgado M^a T. 2005. Manual de radiología clínica. Editorial Elsevier.
- Freyre E.S., Urtubey E. & Giuliano A.D. (2007). Epidermal caracteres of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine. *Caldasia*, 29, 23- 38.
- Flores Y, Salcedo L, Almanza G. (2011). *De la Planta al Medicamento*. 1ra edición. UMSA-Bolivia.
- Girault, L. (1989). "Kallawayá – Investigación sobre prácticas medicinales y mágicas", La Paz.
- Gonzales D., E. L. (1998). "Especies antiinflamatorias de la flora boliviana". Tesis Doctoral. Madrid-España.
- González E., Apaza D. (2011). Estudios Farmacológicos Preclínicos. En La Paz. (1^a

- Edición), "De la planta al medicamento": 259-270.
- Gonzales E., Arias J. L., Gutierrez D., Arias J., Alarcon W. & Zegarra A. (2001). Evaluación de la actividad gastroprotectora y ulcerogénica de plantas medicinales Bolivianas. *Revista Boliviana de Química*, 18.
- Gonzales E., Iglesias I., Carretero E., Villae A. (2000). Gastric cytoprotection of bolivian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 70,329-333.
- Guyton, A. (1994). "Fisiología y fisiopatología". 5ª ed. Editorial Interamericana McGraw-Hill, México
- Hoyos K. (2008). Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima-Perú.
- Kannan K, Ortmann RA, Kimpel D. (2005). Animal models of rheumatoid arthritis and their relevance to human disease. *Pathophysiology*, 12, 167-81
- Koch A, Szekanecz Z, Friedman J. (1998). Effects of thrombospondin-1 on disease course and angiogenesis in rat adjuvant-induced arthritis. *Clin Immunol. Immunopathol*, 86, 199-208.
- López-Lázaro M, (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid Luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9, 31-59.
- Loza B., G. (1972). "Esbozo de Medicina Ayмара", La Paz-Bolivia.
- Liu, Y. L.; Lin, H. M.; Zou, R.; Wu, J. C.; Han R.; Raymond, L. N.; Reid, P. F.; Qin, Z. H. (2009) "Suppression of complete Freund's adjuvant-induced adjuvant arthritis by cobra toxin"; *Acta Pharmacol*, 30(2):219-27.
- Nagore Fernández-Llanio Comella, Meritxell Fernández Matilla, Juan Antonio Castellano Cuesta. (2015). Have complementary therapies demonstrated effectiveness in rheumatoid arthritis?. *Reumatol Clin*, 845 (7).
- Nair V, Kumar R, Singh S, Gupta YK. (2012). Investigation into the anti-inflammatory and antigranuloma activity of *Colchicum luteum* Baker in experimental models. *Inflammation*, 35:881-8.
- Newbould, B.B. (1965). Suppression of adjuvant-induced arthritis in rats with 2-butoxy carbonyl methylene-4-oxothiazolidine. *Br. J. Pharmacol. Chemother*, 24, 632-640.
- Pan, H., Lai C., Wang Y., Ho. (2006). Acacetin suppressed LPS-induced up-expression of iNOS and COX-2 in murine macrophages and TPA-induced tumor promotion in mice, *Biochemical Pharmacology*, 72, 1293-1303.
- Pinzon L, Uy M, Sye K, Wang M, Chu I. (2011). Isolation and characterization of antimicrobial, anti-inflammatory and chemopreventive flavones from *Premna odorata* Blanco. *Journal of Medicinal Plants*, 5(13), 2729-2735.
- Sakaguchi S, Sakaguchi N. (2005). Animal models of arthritis caused by systemic alteration of the immune system. *Curr Opin Immunol*; 17, 589-94.
- Souza M, Siani A, Ramos M, Menezes O, Henriques M. (2003). Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteracea species. *Die Pharmazie*, 58 (8), 582-586.
- Tietz N.W. (2006.). *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., (3), 518-531
- Vandebroek, I.; Thomas, E.; Ametrac. (2003). "Plantas medicinales para la atención primaria de la salud". *Conocimiento de ocho médicos tradicionales de Apillapampa*. Editorial Graficas Serrano. Cochabamba-Bolivia; p. 57.
- Wachter, G. (1998). "Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador", *J Ethnopharmacol*, Jun;61(2); p. 161 - 166.
- Williams RO. (1998). Rodent models of arthritis: relevance for human disease. *Clin Exp Immunol*; 114, 330-2.
- Zdero C, Bohlmann F, Solomon J, Kin R, Robinson H. (1989). Ent-clerodanes and other constituents from bolivian *Baccharis* species. *Phytochemistry*; 28, 531-1