



ARTÍCULO ORIGINAL

Comparación de la actividad antiinflamatoria del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* “Tuna” versus indometacina en *Mus musculus* BALB/c

Aldo Roberto Burga-Bustamante^{1,a} | Miguel Ángel Marcelo-Vereau^{1,2,b} | Helmer Helí Lezama-Vigo^{1,c} | Lizzie Karen Becerra-Gutiérrez^{1,d}

1. Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Chiclayo, Perú.
2. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Facultad de Medicina Humana, Coordinador de Farmacología, Lambayeque, Perú.
- a. Médico Cirujano.
- b. Médico Cirujano, Maestría en docencia universitaria e investigación educativa.
- c. Biólogo y Químico. Magíster en Ciencias con mención en Microbiología.
- d. Biólogo-Microbiólogo, magíster en Microbiología Clínica, doctora en Microbiología.

Correspondencia:

Aldo Roberto Burga-Bustamante
Correo: doctorburgab@outlook.es

Resumen

Objetivos: Determinar la eficacia antiinflamatoria del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* y el de la indometacina en *Mus musculus* BALB/c. **Metodología:** Se utilizó un diseño experimental doble ciego, con una muestra de 54 ratones, distribuidos en seis grupos de tres ratones cada uno, a todos se les procedió a administrar vía subcutánea 2 mL de aire estéril en el dorso un día antes y estuvieron 12 horas en ayuno, luego se dividieron en grupos de control negativo, control con indometacina, control con gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica*, control positivo con Carragenina al 2 %, grupo experimental con carragenina al 2 % e indometacina y grupo experimental con carragenina al 2 % y gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica*. Posteriormente se midió la respuesta inflamatoria en base al recuento de células mediante la tinción Wright. El estudio se repitió dos veces para tener una mejor manipulación de los ratones. **Resultados:** El gel de *Opuntia ficus-indica* tiene actividad antiinflamatoria similar a la indometacina, las células con mayor porcentaje evaluadas correspondieron a los neutrófilos, los resultados en porcentajes obtenidos fueron 95,8 % de neutrófilos, 3,7 % de eosinófilos, 0,5 % de linfocitos y 0 % de macrófagos. Así mismo, se evidenció que tanto la tuna como la indometacina no inducen respuesta por sí solas. **Conclusiones:** La eficacia antiinflamatoria del gel de *Opuntia ficus-indica* en *Mus musculus* BALB/c, es ligeramente mayor al obtenido con la indometacina. Por lo que el gel de *Opuntia ficus-indica* en *Mus musculus* BALB/c constituye una alternativa para evaluar el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Palabras clave: Opuntia, Indometacina, Inflamación, Antiinflamatorios no esteroideos.
(Fuente: DeCS-BIREME)

Comparison of the anti-inflammatory activity of *Opuntia ficus-indica* “Tuna” cladode gel versus indomethacin in *Mus musculus* BALB/c

Abstract

Objectives: Determine the anti-inflammatory efficacy of *Opuntia ficus-indica* cladode gel and indomethacin in *Mus musculus* BALB/c. **Methods:** A double-blind experimental design was used, with a sample of 18 mice, distributed into six groups of three mice each. All of them were administered subcutaneously with 2 mL of sterile air on the back one day before and were 12 hours fasting, then they were divided into negative control groups, control with indomethacin, control with *Opuntia ficus-indica* cladode gel, positive control with 2% carrageenan, experimental group with 2% carrageenan and indomethacin and experimental group with carrageenan 2% and *Opuntia ficus-indica* cladode gel. Subsequently, the inflammatory response was measured based on cell count using Wright staining. The study was repeated twice to have better handling of the mice. **Results:** *Opuntia ficus-indica* gel has anti-inflammatory activity similar to indomethacin, the cells with the highest percentage evaluated corresponded to neutrophils, the results in percentages obtained were 95.8% neutrophils, 3.7% eosinophils, 0.5% lymphocytes and 0.00% macrophages. Likewise, it was evidenced that both prickly pear and indomethacin do not induce a response on their own. **Conclusions:** The anti-inflammatory efficacy of *Opuntia ficus-indica* gel in *Mus musculus* BALB/c is slightly greater than that obtained with indomethacin. Therefore, the *Opuntia ficus-indica* gel in *Mus musculus* BALB/c constitutes an alternative to evaluate the treatment of inflammatory diseases.

Key words: Opuntia, Indomethacin, Inflammation, Anti-Inflammatory Agents, Non-Steroidal (MeSH-NLM)

INTRODUCCIÓN

El término antiinflamatorio se aplica a medicamentos empleados para evitar o disminuir la inflamación de tejidos. Entre ellos, los antiinflamatorios no esteroideos actúan aliviando el dolor por su acción analgésica, reducen la inflamación por su acción antiinflamatoria y disminuyen la fiebre por su acción antipirética. Se sabe que las plantas poseen propiedades antiinflamatorias como lo reportado en la cáscara de tuna que presenta actividad antioxidante y antiinflamatoria, de la misma forma algunos polifenoles de las frutas tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas y antibacterianas ⁽¹⁾.

Un estudio realizado en Sicilia, Italia, evaluaron la actividad citoprotectora de los cladodios de *Opuntia ficus-indica*, donde fueron efectivos para el tratamiento de úlcera gástrica. El polvo de los cladodios de *Opuntia ficus-indica* presentan un efecto citoprotector y terapéutico puesto que inhiben lesiones gástricas inducidas por etanol-HCl. Tal efecto es generado por la estimulación y el incremento en la producción de mucosa gástrica, en específico, el mucílago presente en la tuna acelera la restauración de las alteraciones histológicas inducidas por etanol y los disturbios en membrana plasmática de la mucosa gástrica, mostrando un efecto antiinflamatorio ⁽²⁾.

El VPH es un agente causal del cáncer de cuello uterino, principalmente de los carcinógenos de alto riesgo. Es una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) más comunes, con un estimado del 80 % de las mujeres con una infección activa por VPH en algún momento de sus vidas. La prevalencia del ADN del VPH en mujeres con citología normal en todo el mundo es de alrededor del 10 %, con una mayor frecuencia en África y América Latina (20-30 %) ⁽⁵⁻⁹⁾.

Otro estudio realizado en el 2021 determinó la actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de las variedades anaranjada, morada y blanca de *Opuntia ficus-indica*, la actividad antiinflamatoria *in vitro* fue evaluada por estabilización de membrana de glóbulos rojos, el porcentaje de actividad antiinflamatoria *in vitro*, fueron para la variedad anaranjada (60,3 %), morada (51,4 %) y blanca (36,0 %), respectivamente, mostrando menor actividad, frente a dexametasona (87,9 %) y diclofenaco (84,6 %). Concluyendo que la pulpa de los frutos de las tres variedades tenía actividad antioxidante y antiinflamatoria ⁽¹⁾.

Los fitoquímicos presentes en *Opuntia ficus-indica* pueden contribuir a reducir el riesgo de enfermedades correlacionadas con el estrés oxidativo. Es importante considerar la complementación en las dietas con *Opuntia ficus-indica* o productos derivados del mismo; así tenemos, que en deportistas se suplementa a la dieta, lo que incrementa la actividad tanto en alta como en baja frecuencia, y además decrece la velocidad del corazón (pulsaciones min⁻¹). Además, es imprescindible continuar las investigaciones que permitan definir el mecanismo de acción y aislar los compuestos activos que generan los diversos efectos benéficos ⁽²⁾.

Una de las técnicas para la evaluación de procesos inflamatorios es la técnica de bolsa de aire, el cual es un modelo para estudiar inflamación crónica. Este modelo se basa en la formación de una cavidad subcutánea de aire estéril a nivel dorsal en ratas o ratones, dicha cavidad puede utilizarse como cámara de cultivo celular porque genera una estructura similar a la membrana sinovial la cual está constituida por macrófagos y fibroblastos ⁽³⁾.

Inmunológicamente la respuesta inflamatoria se puede generar a partir de células (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, macrófagos, células cebadas y plaquetas) y de proteínas circulantes (componentes del complemento, coagulación, fibrinólisis y vía de la cinina). Esta es la reacción del cuerpo a lesiones como la invasión por un agente infeccioso, exposición a un agente químico nocivo o trauma físico. La inflamación persistente puede dar como resultado estados patológicos siendo nociva para el individuo ⁽⁴⁾. En el proceso inflamatorio existen dos tipos de células implicadas, unas se encuentran en forma permanente en los tejidos, como son los mastocitos y las células endoteliales, y otras pueden migrar y acceder al sitio afectado desde la sangre, como son los neutrófilos polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y linfocitos. Estas células producen una gran cantidad de moléculas activas que, de manera directa o indirecta, son mediadores del proceso inflamatorio ⁽⁵⁾.

En el tratamiento convencional de la inflamación, comúnmente se hace uso de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) que comparten una actividad analgésica, antipirética y antiinflamatoria ⁽⁴⁾. El mecanismo de acción se basa en la inhibición sobre la actividad de las ciclooxigenasas, y por consiguiente la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y prostacilinas. La mayoría de los AINE son ácidos débiles con capacidad de ionización a pH fisiológico ⁽⁶⁾. Los mecanismos de la inflamación están conectados entre sí, ya que la vasodilatación, la quimiotaxis y la liberación de mediadores pueden generar mecanismos en cadena o en cascada, que facilitan el auto mantenimiento de la inflamación. Al inhibir la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, los AINE reducen su actividad sensibilizadora sobre terminaciones sensitivas, así como la actividad vasodilatadora y quimiotáctica. Cortan, de esta manera, uno de los mecanismos que intervienen en la inflamación ⁽⁴⁾.

Adicional al tratamiento convencional de la inflamación, tenemos el tratamiento alternativo con el uso de cirugía, alimentación, plantas medicinales, entre otros. Hoy en día diversas plantas con propiedades medicinales como la *Uncaria tomentosa* (uña de gato), la *Malva silvestris* (malva), *Piper aduncum* (matico), *Allium sativum* (Ajo), *Plantago major* (llantén) u *Opuntia ficus-indica* (tuna), figuran entre las más usadas por la población ⁽⁷⁾.

Opuntia ficus-indica también conocido como tuna, chumbera, higuera de chumbo, pita, higuera de pala o palera, pertenece al género de la familia de las cactáceas, que consta de más de 300 especies. Estas son plantas dicotiledóneas, o sea que

sus semillas tienen dos hojas embrionarias, se ha descrito como un árbol cuyo tronco y ramas se componen de las hojas (cladodios), las cuales son anchas, gruesas, presentan espinas, tienen mucho zumo y son viscosas y cuyo fruto es la tuna. El cladodio es una rama (macroblasto) aplastada, con función de hoja, es un tallo modificado, aplanado, que tiene la apariencia de una hoja y que la reemplaza en sus funciones, porque las hojas existentes son muy pequeñas o rudimentarias para poder cumplir con sus tareas de almacenamiento (parénquima), lo que permite conservar el agua y nutrientes en sus tallos y raíces para sobrevivir durante prolongados periodos de sequía ⁽⁶⁾.

Los efectos analgésicos son similares al del ácido acetil salicílico (200 mg kg⁻¹) y antiinflamatorios asociados con extractos de tuna se han reportado, al igual que propiedades cicatrizantes, diuréticas, anti úricas y antivirales (contra ADN del virus del herpes, el ARN del virus influenza tipo A y el virus de la inmunodeficiencia humana, VIH). Oligosacáridos de pectina y mucílago de tuna muestran actividad prebiótica⁽²⁾. El incremento de ácido g-aminobutírico podría ser la causa de la analgesia ⁽⁸⁾.

Actualmente en el mundo, el uso de plantas medicinales está tomando auge debido a que gran parte de la población recurre a fuentes naturales como un medio para el tratamiento de diversas enfermedades. Por ello es de vital importancia realizar estudios y validaciones farmacológicas de plantas medicinales con la finalidad de establecer si presentan o no las propiedades curativas atribuidas, para poder utilizarlas como una alternativa en la terapéutica, así como determinar la eficacia y seguridad que éstas poseen al ser utilizadas por la población, y con ello reducir muchos efectos adversos presentados por los AINE. Por lo tanto, la presente investigación tuvo como objetivo determinar la eficacia antiinflamatoria del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* y el de la indometacina en *Mus musculus* BALB/c.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de investigación

El diseño de investigación fue experimental, transversal, prospectivo.

Población y muestra

Se escogió la especie de *Opuntia ficus-indica* por ser de amplia distribución en el medio y por contar con importantes estudios sobre sus propiedades medicinales. Los animales de laboratorio fueron 54 ratones machos adultos, de la especie *Mus musculus* BALB/c, cuyo peso promedio fue entre 30 y 50 gramos, los cuales fueron obtenidos del Instituto Nacional de Salud del Perú.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de la información de los grupos en estudio se empleó una ficha de recolección de datos, elaborada por el equipo de investigación de acuerdo con la observación directa de la fuente primaria. El procedimiento que se realizó fue el siguiente:

- Recolección e identificación de *Opuntia ficus-indica*. La especie *Opuntia ficus-indica* se recolectó del Mercado Modelo de la ciudad de Chiclayo. Fue llevado al Laboratorio de Investigación N°14 de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres – Filial Norte (FMH USMP-FN), para su procesamiento.
- Extracción del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica*. Para la extracción del gel, los cladodios de *Opuntia ficus-indica* se limpiaron y sumergieron en agua destilada desde 24 horas antes del día de su utilización, transcurrido ese tiempo se procedió a extraer el gel, abriendo las paredes con un bisturí estéril y retirando el gel con mucho cuidado de no contaminar. Posteriormente el gel se almacenó en frascos estériles entre 4 a 8 °C en el Laboratorio de Investigación de la FMH USMP-FN hasta su utilización.
- Formación de la bolsa de aire en *Mus musculus* BALB/c. Para la obtención de aire estéril, se utilizaron jeringas de 10 cc y mecheros. Se procedió a la aspiración de 10 ml de aire con una aguja N° 21 estéril, a un centímetro encima de la llama del mechero, lo que garantizó su esterilidad. La formación de la bolsa de aire se realizó administrando vía subcutánea (SC) en el dorso de los ratones (previa desinfección y depilado de la zona), 10 ml de aire estéril con una aguja N° 28, produciéndose así una cavidad estéril ⁽⁹⁾, se inoculó a un total de 54 *Mus musculus* BALB/c.
- Determinación y comparación de la actividad antiinflamatoria. Después de los dos días de inoculada la bolsa de aire, se procedió a formar los seis grupos de trabajo, los cuales fueron divididos aleatoriamente, cada grupo contó con tres ejemplares de *Mus musculus* BALB/c cada uno, los que permanecieron en ayunas 12 horas antes del experimento, para la validez y obtención de resultados más precisos se realizaron dos repeticiones en fechas diferentes.

Los ratones fueron alimentados dos veces al día, a base de comida balanceada adquirida del Instituto Nacional de Salud hasta la evaluación. Al segundo día de inoculada la bolsa de aire y previo ayuno de 12 horas, a los grupos N° 4, N° 5 y N° 6 se inyectó la carragenina 0,1 ml al 2 % dentro de la cavidad de la bolsa de aire ⁽⁹⁾ (según el cuadro N° 1). Después de transcurridos 30 minutos a todos los grupos a excepción del primero se administró vía oral (VO) a través de una sonda, el tratamiento indicado como se detalla a continuación:

Cuadro 1. Distribución de grupos de trabajo

N	Grupos	Tratamiento	Dosis y vía de administración
1	Control negativo	Ninguno	Ninguna
2	Control indometacina	Indometacina	1 ml (10 mg/kg) VO
3	Control tuna	Tuna	1 ml VO
4	Control positivo	Carragenina 2 %	0.1 ml SC
5	Exp. A	Carragenina 2 % + indometacina	0.1 ml SC + 1 ml (10 mg/kg) VO
6	Exp. B	Carragenina 2 % + tuna	0.1 ml SC + 1 ml VO

VO = vía oral; SC = subcutáneo

Grupo 1 (control negativo): Este grupo estuvo constituido por nueve ejemplares de *Mus musculus* BALB/c machos, a los cuales, al segundo día, previo ayuno de 12 horas como control negativo. Posteriormente a las seis horas se realizó el análisis citológico del exudado con aspiración de la bolsa de aire con una aguja N° 28, y luego se realizaron frotices para el recuento de células mediante el examen microscópico.

Grupo 2 (control indo): Este grupo estuvo constituido por nueve ejemplares de *Mus musculus* BALB/c machos, a los cuales, al segundo día, previo ayuno de 12 horas, se les administró VO 1 ml de indometacina (10 mg/kg). Posteriormente luego de seis horas se realizó el análisis citológico del exudado con aspiración de la bolsa de aire con una aguja N° 28, haciendo el recuento de células mediante el examen microscópico.

Grupo 3 (control tuna): Este grupo estuvo constituido por nueve ejemplares de *Mus musculus* BALB/c machos, a los cuales, al segundo día, previo ayuno de 12 horas, se les administró VO 1 ml de gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica*. Luego de seis horas se realizó el análisis citológico del exudado con aspiración de la bolsa de aire con una aguja N° 28, haciendo el recuento de células mediante el examen microscópico.

Grupo 4 (control positivo): Este grupo estuvo constituido por nueve ejemplares de *Mus musculus* BALB/c machos, a los cuales, al segundo día, previo ayuno de 12 horas, se inyectó la carragenina 0.1 ml al 2% en la bolsa de aire⁽⁹⁾. Luego de seis horas se realizó el análisis citológico del exudado con aspiración de la bolsa de aire con una aguja N° 28, efectuando el recuento de células mediante el examen microscópico.

Grupo 5 (experimental A): Este grupo estuvo constituido por nueve ejemplares de *Mus musculus* BALB/c machos, a los cuales, al segundo día, previo ayuno de 12 horas, se inyectó la carragenina 0.1 ml al 2% en la bolsa de aire⁽⁹⁾. Luego de treinta minutos se les administró VO 1 ml de Indometacina (10 mg/kg), según otros estudios con el test de carragenina⁽¹⁰⁾. Luego de seis horas se realizó el análisis citológico del exudado con aspiración de la bolsa de aire con una aguja N° 28, realizando el recuento de células mediante el examen microscópico.

Grupo 6 (experimental B): Este grupo estuvo constituido por nueve ejemplares de *Mus musculus* BALB/c machos, a los cuales, al segundo día, previo ayuno de 12 horas, se inyectó la carragenina 0.1 ml al 2% en la bolsa de aire⁽⁹⁾. Luego de treinta minutos se les administró VO 1 ml de gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica*. Luego de seis horas se realizó el análisis citológico del exudado con aspiración de la bolsa de aire con una aguja N° 28.

- **Análisis citológico.** Se realizaron extendidos del exudado, luego se tiñeron con Wright y se observaron al microscopio con la finalidad de determinar el recuento de neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y macrófagos presentes. Cabe mencionar que el recuento citológico total se hizo en base a 100 campos observados y las células contabilizadas se expresaron en porcentaje para su análisis respectivo⁽⁹⁾.

Análisis estadístico

Los datos se codificaron y digitaron en Microsoft Excel 2016 y se procesaron con IBM SPSS 22. se realizó un análisis descriptivo del recuento celular total y porcentaje por tipo de células. El análisis comparativo del efecto antiinflamatorio del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* comparado con el de la indometacina en *Mus musculus* BALB/c se realizó mediante las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis. S e consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

Consideraciones éticas

La investigación se realizó respetando los principios de reducir el número de animales experimentales, reemplazar los animales de experimentación por otros métodos y refinar las técnicas para aminorar el sufrimiento. El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité de Ética de la USMP (Oficio N°230-2012). Asimismo, se respetaron los principios y aspectos relacionados con el cuidado y uso de animales de laboratorio detallados en la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, respecto a la protección de los animales utilizados para fines científicos, y la Ley Nacional de Protección de Animales en Cautiverio⁽¹¹⁾. Al final del experimento las ratones fueron eutanasiados con pentobarbital sódico a dosis de 100 mg/kg PV.

RESULTADOS

En la tabla 1, podemos apreciar la cantidad total de células evaluadas durante todo el experimento, en ella se observa que en los tres primeros grupos es mínima la cantidad de células contabilizadas en comparación a la cantidad total de células en el grupo que sólo se le inoculó carragenina. Sin embargo, en los grupos experimentales 5 y 6 la cantidad total de células es casi 10 veces a la del verdadero control (Grupo 4). Además, se pudo apreciar que en todos los grupos el tipo de célula que predominó fueron neutrófilos.

Tabla 1. Recuento citológico total de los diferentes grupos de trabajo evaluados para la determinación y comparación de la actividad antiinflamatoria del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* "Tuna" versus indometacina en *Mus musculus* BALB/C"

Grupos	Neutrófilos	Eosinófilos	Linfocitos	Macrófagos	Total
1 Control negativo	257	112	28	0	397
2 Control	217	95	7	1	320
3 Control tuna	381	154	0	1	536
4 Control positivo	5 336	496	75	3	5 910
5 Exp. A	12 741	552	185	0	13 478
6 Exp. B	13 007	503	74	0	13 584

Exp. A. Carragenina 2 % + indometacina; Exp. B. = Carragenina 2 % + tuna.

En la tabla 2, observamos el recuento citológico total de células evaluadas durante todo el experimento expresado en porcentaje. Al igual que en la tabla anterior observamos que en los tres primeros grupos el porcentaje de células contabilizadas es menor en comparación al total de células en el grupo al que sólo inoculó carragenina. Sin embargo, en los Grupos 5 y 6 el porcentaje de células contabilizadas es casi 10 veces superior a la del testigo. Además, se pudo apreciar que en todos los grupos el tipo de célula que predominó fueron neutrófilos.

Tabla 2. Recuento citológico porcentual de los diferentes grupos de trabajo evaluados para la determinación y comparación de la actividad antiinflamatoria del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* "Tuna" versus indometacina en *Mus musculus* BALB/c".

Grupos	Neutrófilos	Eosinófilos	Linfocitos	Macrófagos	Total
1 Control negativo	64,74	28,21	7,05	0,00	100
2 Control	67,81	29,69	2,19	0,31	100
3 Control tuna	71,08	28,73	0,00	0,19	100
4 Control positivo	90,29	8,39	1,27	0,05	100
5 Exp. A	94,53	4,10	1,37	0,00	100
6 Exp. B	95,75	3,70	0,55	0,00	100

Exp. A. Carragenina 2 % + indometacina; Exp. B. = Carragenina 2 % + tuna.

En la Tabla 3, se observa que el efecto antiinflamatorio comparado entre el gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* y la indometacina, es más eficiente en la reducción de eosinófilos

en favor del primero, siendo estadísticamente significativo ($p = 0,020$). Además, el efecto antiinflamatorio comparado entre el gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* y la indometacina muestra mayor eficiencia del primero en la reducción de linfocitos, siendo estadísticamente significativo ($p < 0,001$).

Tabla 3. Comparación de tipo de células entre los grupos de trabajo para evaluar el efecto antiinflamatorio del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* "tuna" versus indometacina en *Mus musculus* BALB/c.

Grupo	Neutrófilos	Eosinófilos	Linfocitos	Macrófagos
1 Control negativo	9,44	8,56	16,5	13,0
2 Control	16,28	15,22	13,5	14,5
3 Control tuna	16,28	18,22	12,0	14,5
Valor p	0,110	0,020	0,140	0,590
4 Control positivo	11,06	13,22	11,94	15,0
5 Exp. A	18,11	17,22	8,83	13,5
6 Exp. B	18,11	11,56	21,22	13,5
Valor p	0,150	0,300	<0,001	0,370

Valor de p de Kruskal Wallis Test; Exp. A. Carragenina 2 % + indometacina; Exp. B. = Carragenina 2 % + tuna

DISCUSIÓN

En el presente estudio se produjo una noxa o daño que viene a ser, en este caso, la introducción de sustancias extrañas, por lo cual han de migrar células responsables de la inflamación, esto puede observarse en grupos en los cuales se inoculó una sustancia extraña (tabla 1 y 2). Ello se debe a que la inflamación es una respuesta inespecífica frente a las agresiones del medio, generada por los agentes inflamatorios y surge con el fin defensivo de aislar y destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano dañado⁽⁶⁾.

Para su análisis se cuantificaron las células responsables del proceso de la inflamación, para ello según el esquema ya mencionado se las observaron a través del microscopio óptico. En el proceso inflamatorio existen dos tipos de células implicadas, unas se encuentran en forma permanente en los tejidos, como son los mastocitos y las células endoteliales, y otras pueden migrar y acceder al sitio afectado desde la sangre, como son los neutrófilos polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y linfocitos. Estas células producen una gran cantidad de moléculas activas que, de manera directa o indirecta, son mediadores del proceso inflamatorio⁽⁵⁾.

En cuanto a los signos cardinales observados de la inflamación en los ratones, se apreció leve rubor y calor, esto se debe a un aumento del flujo sanguíneo en el área traumática y a la constricción de las vénulas. Esto concuerda con lo descrito por Paracelso el cual considera los signos rubor, tumor, calor y dolor, y que, posteriormente, Galeno añade el quinto signo que es la pérdida de la función ⁽⁶⁾.

La formación de la bolsa de aire proporciona un entorno localizado para el estudio de la inflamación y la respuesta celular, debido a que la bolsa tiene un forro morfológicamente similar a la membrana sinovial, lo que permite la obtención de grandes volúmenes de exudados inflamatorios. La inyección de solución de carragenina en la bolsa de aire provoca una reacción inflamatoria caracterizada por la infiltración de células blancas de la sangre, un aumento del volumen del exudado y producción de mediadores bioquímicos tales como citoquinas, leucotrienos y prostaglandinas ⁽¹³⁾.

Como se observó en la Tabla 1, el mayor porcentaje de células comprendió a los neutrófilos. Esto se debe a que en la inflamación existe una migración de granulocitos y neutrófilos como se observa en el trabajo con el extracto de Ajmodadi churna (AJM) en el modelo de la bolsa de aire ⁽⁹⁾. Esta notable acumulación de neutrófilos en las luces de los vasos, se denomina marginación ⁽⁴⁾.

En lo que respecta a la tabla 2, los porcentajes celulares entre los grupos 1 y 2, es similar. No hay una diferencia estadística y esto se debe a que la indometacina no produce una respuesta de tipo inflamatoria, sino que el mecanismo que ejerce es antiinflamatorio y es utilizado como fármaco de referencia en estudios experimentales donde evalúan la eficacia de nuevas drogas en animales ⁽¹⁴⁾. Algo similar se observa en los grupos 1 y 3, donde se observa que en el grupo inoculado con gel de cladodios de tuna el recuento fue similar que el testigo, salvo que en el grupo inoculado con gel de cladodios de tuna no se encontró linfocitos. Esto evidencia que el gel de cladodios de tuna no induce una respuesta de tipo inflamatoria, sino que su actividad es antiinflamatoria ⁽⁴⁾. Al comparar los grupos 1 y 4, se observa que en el grupo inoculado con carragenina el recuento obtenido superó al obtenido en el grupo testigo, esto se debería a que la carragenina induce una respuesta inflamatoria, debido a que estimula la producción de prostaglandinas en mayor cantidad, las cuales promueven los procesos inflamatorios, inmunológicos y angiogénicos en el crecimiento tumoral ⁽⁴⁾, evidenciándose que la carragenina estimula la producción o migración de neutrófilos y eosinófilos predominantemente. Por otro lado, al comparar el grupo 1 con el grupo 5 y 6, se observa que en el grupo inoculado con carragenina e indometacina, y carragenina con gel de cladodios de tuna el recuento obtenido superó al obtenido en el grupo testigo, ya que la carragenina promueve los procesos inflamatorios y la indometacina presenta una mayor respuesta con carragenina que sin ella, lo que concuerda con el estudio realizado con la planta *Salpichroa organifolia* (PSALO) donde utilizan carragenina e indometacina como droga de referencia la que mostró efecto antiinflamatorio luego de las 5 horas ⁽¹⁴⁾.

En base a este estudio se tomó la hora de referencia sería las seis horas, debido a que tanto la planta *Salpichroa organifolia* y la indometacina muestran efecto a esa hora ⁽¹⁴⁾.

Cabe mencionar que recientemente en un estudio realizado en el 2023 sobre evaluación de las propiedades antiinflamatorias y analgésicas del extracto metanólico de *Opuntia ficus indica* L. en animales pequeños (modelo de ratas y ratones), se demostró un efecto analgésico significativo del extracto, como lo demuestra una reducción del dolor inducido por el ácido acético y las pruebas de placa caliente. Además, el extracto exhibió efectos antiinflamatorios, como lo indica una disminución en el edema de las patas inducido por carragenina y la inflamación inducida por dextrano. Estos efectos se deberían a los constituyentes que se encuentran en el gel como son: quercetina (1,36 mg/g), ácido ferúlico (1,24 mg/g), quercetina metilada (1,16 mg/g) y ácido cafeico (1,01 mg/g) como constituyentes predominantes en el extracto etanólico. La presencia de estos compuestos bioactivos, particularmente quercetina, ácido ferúlico, quercetina metilada y ácido cafeico, en cantidades significativas indica las posibles propiedades farmacológicas del extracto de *Opuntia ficus indica*. Estos compuestos se han asociado con diversos efectos beneficiosos, incluidas actividades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas, entre otras ⁽¹⁵⁾. Por otro lado, al comparar el grupo 5 y 6, donde ambos grupos se inoculó carragenina, se evidenció que en ambos grupos hay un aumento notable de neutrófilos, probablemente debido a que es una de las primeras células en llegar al foco inflamatorio ⁽⁴⁾. Algo similar sucede con los eosinófilos, en los cuales, el mayor porcentaje correspondió al grupo inoculado con indometacina, debido a que estas células están involucradas en los procesos de regulación de la respuesta inmune ⁽¹⁶⁾, reforzando las propiedades antiinflamatorias y analgésicas de la indometacina ⁽¹⁴⁾. Por otro lado, en cuanto al mayor porcentaje de linfocitos encontrados en el grupo inoculado con indometacina, esto concuerda con algunos trabajos realizados ⁽¹⁷⁾, en el cual evidencia que la indometacina (un inhibidor no selectivo de COX) no suprimió la elevación de los niveles de FNT- α inducidos por carragenina, aumentando de esta manera la producción de linfocitos. Sin embargo, a diferencia de la indometacina, el gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* no estimula la producción de linfocitos ni macrófagos, por lo que sería una ventaja al disminuir la respuesta inflamatoria al estímulo estresante ⁽²⁾.

También se pudo observar en los grupos del 1 al Grupo 4, un aumento significativo de las células inflamatorias con carragenina, debido a que este es un inductor de la inflamación ⁽⁵⁾. Según estudios recientes en el modelo de inducción de edema por carragenina han concluido que el carragenina estimula la liberación de FNT α , la cual, a su vez, induce la producción de otras citocinas (como IL-1, IL-6 e IL-8), así como la estimulación de la producción de mediadores derivados de COX y de la producción local de aminas simpáticas ⁽¹⁷⁾.

En los grupos 4 y 5 con carragenina, donde el recuento de neutrófilos fue ligeramente mayor con indometacina, la que tiene una mayor respuesta antiinflamatoria con carragenina, lo que concuerda con el estudio donde se evaluó la actividad antiinflamatoria de la planta *Salpichroa origanifolia* comparado con la indometacina usando carragenina en ratones *Mus musculus* Cepa CF1 de 25 – 30 g de peso, donde se evidenció la eficacia antiinflamatoria de la indometacina ⁽¹⁴⁾. En dicho estudio se evaluó el efecto analgésico utilizando el test de las contorsiones inducidas por ácido acético en ratones, donde hubo una disminución en el número de contorsiones con polvo que fue del 49 %, superior a la fenilbutazona (41 %) y comparable al ketoprofeno y ácido acetilsalicílico (ASA) (54 % y 52 %). Se concluye que el polvo tiene un efecto antiinflamatorio comparable al ASA. El efecto del polvo tiene un periodo de acción más prolongado que la fenilbutazona y como analgésico es superior a la fenilbutazona y ligeramente menor que el ketoprofeno. Teniendo en cuenta que en estos estudios el polvo de *Salpichroa origanifolia* no mostro evidencias de toxicidad y que posee una acción antiinflamatoria y analgésica comparable con AINE como el ASA resultaría interesante realizar en el futuro estudios clínicos para determinar la utilidad de este extracto como fitofármaco ⁽¹⁴⁾.

También en los grupos 4, 5 y 6, donde se observa que en el grupo 4, inoculado con carragenina, hay una estimulación de células inflamatorias como los neutrófilos, linfocitos y macrófagos, este aumento no se observa en los grupos 5 y 6, debido a que por acción de la tuna hay actividad antiinflamatorias. Sin embargo, se evidencia que la mayor producción de eosinófilos, no sólo generó la producción de interleucinas (IL) antiinflamatorias sino también al parecer estimuló la producción de mediadores productores de linfocitos y neutrófilos ⁽¹²⁾.

Es importante mencionar que dentro de los mecanismos por los cuales el gel de cladodios de Tuna tiene efecto antiinflamatorio es debido a que dentro de sus componentes contiene flavonoides, una clase de metabolitos aromáticos ampliamente distribuidos en la naturaleza, que poseen una gran variedad de efectos biológicos entre los que sobresale la actividad antiinflamatoria, debido a que tiene actividad inhibitoria sobre los FNT- α ⁽¹⁸⁾.

En la tabla 3, se evidencia que el efecto antiinflamatorio es mayor con el gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* que la indometacina, esto en base a los eosinófilos y linfocitos, debido a que gracias a que los neutrófilos generan citosinas proinflamatorias como la IL-6, la cual estimula la maduración y producción de neutrófilos y linfocitos, así mismo genera también IL-4, la cual tiene acción antiinflamatoria ⁽¹⁹⁾. Cabe mencionar que es necesario la realización de más trabajos de investigación sobre la evaluación de más mediadores que participan en los procesos antiinflamatorios.

Se concluye que la eficacia antiinflamatoria del gel de *Opuntia ficus-indica* en *Mus musculus* BALB/c, es ligeramente mayor

al obtenido con la indometacina. Además, el Gel de *Opuntia ficus-indica* en *Mus musculus* BALB/c, estimula la producción de neutrófilos, eosinófilos mas no de linfocitos ni macrófagos. Por lo que el gel de *Opuntia ficus-indica* en *Mus musculus* BALB/c es efectivo como antiinflamatorio, constituyendo una alternativa para evaluar el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Conflicto de intereses: No se tiene conflicto de interés por parte de los autores

Financiamiento: Autofinanciamiento

Contribución de autoría: ARBB Concepción y diseño de estudio, recolección, análisis y redacción de artículo. MAMV: Diseño, interpretación, revisión final de manuscrito. HHLV: Diseño, análisis y revisión de manuscrito. LKBG: Concepción, diseño de estudio, recolección, revisión final de manuscrito. Todos los autores aprobaron la versión final del manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Enciso E, Aguilar E, Común P, Tinco J. Actividad antiinflamatoria y antioxidante de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* "Tuna". Rev. Soc. Quím. 2021; 87(3):207-216. Doi: 10.37761/rsqp.v87i3.348.
2. Guevara J. Efectos Biofuncionales del Nopal y la Tuna. Revista Horticultura [internet]. 2009 [Citado el 30 de diciembre del 2023] 71: 18-19. Disponible en: https://www.horticom.com/revistasonline/horticultura/rhi71/cientifico_rhi71.pdf
3. Arroyo J, Cisneros C. Modelos experimentales de Investigación Farmacológica. Facultad Medicina Humana. UNMSM. 2012. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3730/Ramirez_re.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Aragadvay Y. Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Baccharis latifolia*) y hierbamora (*Solanum nigrum*). [Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2009. [citado el 30 de diciembre de 2023]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/216>
5. Baez C. Determinación del efecto antiinflamatorio de los extractos hexánicos, etanólicos y clorofórmicos de las plantas medicinales: *Bursera aloexylon*, *Amphipterygium adstringens*, *Tilia mexicana*, *Verbascum thapsus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia hispanica*, *Aloe vera*, *Opuntia ficus-indica* en un modelo animal [Tesis para Maestría]. México: Universidad de las Américas de Puebla; 2007. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbc/baez_c_g/capitulo_6.pdf
6. Gómez E, González R, Domingo M. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales [internet]. Chile: Bol. latinoam. Caribe plantas med. Aromát [Internet]. 2011 [citado el 30 de diciembre de 2023]; 10(3):182-217. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=85618379003>
7. Villavicencio O. Criterios de Aplicación Clínica de las Plantas Medicinales . Perú: Uso Clínico de las Plantas Medicinales, Sociedad Peruana de Medicina Biológica (SPEMEB) [Internet]. 2013 [citado el 23 de noviembre de 2023] (8). URL disponible en: <http://archive.is/LHVLw>

8. Díaz-Plascencia D, Rodríguez-Muela C, Mancilla-Flores P, Ruiz-Holguín N, Mena Mungía S, Salvador-Torres F. Fermentación in vitro de nopal forrajero (*Opuntia* spp) genotipo an- tv6 con un inóculo de levadura *Kluyveromyces lactis*. REDVET [Internet]. 2012 [citado el 30 de diciembre de 2023]; 13(1). Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63623398002.pdf>
9. Gentile C, Tesoriere L, Allegra M, Livrea M, D'Alessio P. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibitendothelial ICAM- 1 expression. Ann NY Acad Sci. 2004;1028:481-6. Doi: 10.1196/annals.1322.057
10. Llanio M, Fernández M, Mata A., Cabrera B., Pérez M. Pesquisaje de los Efectos Antiinflamatorios - Analgésicos en Dos Extractos de Esponjas - Cuba: Revista serie Oceanológica [Internet]. 2003 [citado el 30 de diciembre de 2023]; (1):1-6. Disponible en: <https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/2923/Pesquisaje%20de%20los%20efectos%20antiinflamatorios-analg%a9sicos.....pdf?sequence=1&isAllowed=y>
11. Unión Europea. Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos [Internet]. UE; 2010 [Citado el 30 de diciembre del 2023]. Disponible en: <https://www.boe.es/doue/2010/276/L00033-00079.pdf>
12. Duarte DB, Vasko MR, Fehrenbacher JC. Models of inflammation: carrageenan air pouch. Curr Protoc Pharmacol. 2012 Mar;Chapter 5:Unit5.6. doi: 10.1002/0471141755.ph0506s56. PMID: 22383000; PMCID: PMC5954990
13. Barros C, Kimiko R, Machado A, Gerola L, Salomao R. Citocina y Dolor ... Rev Bras Anestesiol [Internet]. 2011 [citado el 10 de octubre de 2023]; 61: 2: 137-142. Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/rba/v61n2/es_v61n2a14.pdf
14. Boeris M, Toso R. Comparación de la Acción Antiinflamatoria y Analgésica del Polvo de *Salpichroa origanifolia* con AINEs utilizados en Medicina Veterinaria. Rev Soc Quím Perú [Internet]. 2009 [citado el 30 de diciembre de 2023]; 73 (3). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n3/a06v75n3.pdf>
15. Ammam A, Zemour H, Kaid M, Villemin D, Soufan W, Belhouadjeb FA. Assessment of the anti-inflammatory and analgesic effects of *Opuntia ficus indica* L. Cladodes extract. Libyan J Med. 2023 Dec;18(1):2275417. doi: 10.1080/19932820.2023.2275417
16. Bordés G, Martínez B, García O, Guisado Barrilao. El Proceso Inflamatorio [Internet]. España: Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada; 2005. [citado el 10 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://ruidera.uclm.es/server/api/core/bitstreams/59f94018-746c-47f7-a682-652b9d460e3b/content>
17. Garrido G. Contribución al Estudio del Mecanismo de Acción Antiinflamatoria del Extracto Natural de *Mangifera indica* L. (VIMANG®). [Tesis de doctorado]. Ciudad de La Habana: Centro de Química Farmacéutica; 2005. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220542011.pdf>
18. Duarte D, Vasko M, Fehrenbacher J. Models of inflammation: carrageenan air pouch. Curr Protoc Pharmacol. 2012;Chapter 5:Unit5.6. doi: 10.1002/0471141755.ph0506s56.
19. Rodríguez M, Vergel N, Ospina L, Calle J, Pinzón R. Evaluación de actividades enzimáticas elastasa y mieloperoxidasa como marcadores de desgranulación leucocitaria en modelos de inflamación aguda. Rev. Col. Cienc. Quim. Farm [Internet]. 2005 [citado el 10 de octubre de 2023]; 34(1):35-45. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/22884/1614-7414-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>