



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
“PEDRO RUIZ GALLO”**



**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**EFICACIA ANTIINFLAMATORIA TÓPICA CUTÁNEA DEL *Plantago  
major* (LLANTÉN) 20% COMPARADO CON INDOMETACINA 1%  
EN RATAS ALBINAS.**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de:  
MÉDICO VETERINARIO**

**Presentado por:**

Garcia Peña, Angie Tamara  
Montedoro Díaz, Norka Isabel

**Asesor Temático y Metodológico:**

M.V MsC. Granda Sotero Oscar

**Lambayeque- Perú**

**2019**

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN**

**EFICACIA ANTIINFLAMATORIA TÓPICA CUTÁNEA DEL *Plantago major* (LLANTÉN) 20% COMPARADO CON INDOMETACINA 1%  
EN RATAS ALBINAS.**

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
MEDICO VETERINARIO**

**Presentado por:**

**BACH.M.V. GARCIA PEÑA ANGIE TAMARA  
BACH.M.V. MONTEDORO DÍAZ NORKA ISABEL**

**Aprobado por:**

---

**Dr. José Luis Vílchez Muñoz**  
**PRESIDENTE**

---

**MSc. Lumber Gonzales Zamora**  
**SECRETARIO**

---

**MSc. Henry Ojeda Barturén**  
**VOCAL**

---

**MSc. Oscar Granda Sotero**  
**PATROCINADOR**

## AGRADECIMIENTO

*Agradecemos a Dios principalmente por permitirnos culminar con nuestro trabajo de investigación, llegar con salud y al lado de nuestros seres queridos para compartir esta alegría.*

*Agradecemos también a nuestros padres, hermanos, y demás familiares por el apoyo moral y económico brindado. A nuestro patrocinador de tesis, el Dr. Oscar Granda Sotero, por la asesoría y la confianza puesta en nosotras. A nuestros jurados de tesis, los Drs. Luis Vílchez Muñoz, Lumber Gonzáles Zamora y Henry Ojeda Barturén, por las observaciones puestas y el tino para manejar diferentes situaciones a lo largo de la revisión y ejecución del estudio de investigación.*

*Agradecemos finalmente a la Dra. Zully Montenegro Esquivel y a la Dra. Margarita por la facilidad que nos dieron para utilizar equipos de laboratorio necesarios en la elaboración de nuestro trabajo de investigación*



VI. RECOMENDACIONES .....	38
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
VIII. ANEXOS .....	42

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1: NIVELES PLASMÁTICOS DE PCR OBTENIDOS A PARTIR DE LA PRUEBA DE DUNCAN.....	31
CUADRO 2: RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN CLÍNICA Y CONTROL DE ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS TÓPICAS EN RATAS ALBINAS A PARTIR DE LA PRUEBA DE DUNCAN .....	35

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS DE PCR PARA CADA TRATAMIENTO A LAS 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 Y 96 HORAS RESPECTIVAMENTE SEGÚN LOS DATOS OBTENIDOS DEL CUADRO 01.....	34
GRÁFICO 2: COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN CLÍNICA Y CONTROL DE ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS TÓPICAS EN RATAS ALBINAS. ....	37

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: Consideraciones para el desarrollo del diseño de investigación.....	42
ANEXO N° 2: Límite de volúmenes y periodos de recuperación en animales de laboratorio <sup>23</sup> . ....	49
ANEXO N° 3: Volúmenes totales de sangre y volúmenes máximos de muestras de sangre recomendadas por peso de cada especie <sup>23</sup> .....	49
ANEXO N° 4: Elaboración del Gel Plantago Major (LLANTÉN) 20% .....	50
ANEXO N° 5: Prueba turbidimétrica de Proteína C Reactiva Cuantitativa: PCR Turbilátex. ....	59
ANEXO N° 6: Resultados objetivos post evaluación y medida de PCR cuantitativo en el suero sanguíneo de las Ues .....	60

ANEXO N° 7: Evaluación clínica y control de administración de sustancias tópicas en ratas albinas .....	61
ANEXO N° 8: Niveles de Proteína C Reactiva obtenida desde las 0 horas hasta las 96 horas; con su respectivo Análisis de Varianza (ANAVA) y Prueba de Duncan .....	65
ANEXO N° 9: Niveles de la evaluación clínica obtenida desde las 0 horas hasta las 96 horas; con su respectivo Análisis de Varianza (ANAVA) y Prueba de Duncan .....	73
ANEXO N° 10: Ejecución de los tratamientos .....	81

## RESUMEN

En Perú, existen múltiples formas de medicina tradicional, la más común es el uso de plantas a las que se atribuye propiedades medicinales, como el *Plantago major* (Pm), cuya composición sugiere múltiples propiedades, incluyendo la antiinflamatoria. En nuestra revisión, encontramos estudios que evalúan sus propiedades en conjunto, siendo escasos los que utilizaron la vía tópica. Nuestro trabajo buscó encontrar una opción antiinflamatoria más accesible, mediante el estudio específico de su efecto antiinflamatorio con respecto al estándar por vía tópica cutánea, de fácil administración, requerida en dolor leve, local y transitorio.

Además, teniendo en cuenta de que hoy en día es un problema para dueños, propietarios, y también de médicos veterinarios lidiar con efectos adversos que produce la gran mayoría de fármacos sintéticos sobre sus animales. Es por eso por lo que una meta nuestra fue lograr probar que un preparado natural, que no va a generar efectos secundarios, es eficaz sobre uno que sí los genera; otra fue probar que existen productos eficaces que están al alcance de propietarios de bajos recursos.

Estimamos la eficacia del *Plantago major* 20% sobre la Indometacina 1%, en el tratamiento de la inflamación tópica cutánea en ratas albinas, en la Quinta Ritcher de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNPRG durante el mes de Octubre del 2018. Estudio objetivo y subjetivo, donde se usó 24 ratas albinas macho, de 8 meses de edad y peso de 250g; empleando una dosis de 4g/kg PV por vía tópica cutánea cada 12h durante 4 días.

Los resultados obtenidos indican que con una confianza de 95% la eficacia antiinflamatoria del *Plantago major* 20% es significativamente menor con respecto a la Indometacina 1% por vía tópica cutánea en ratas albinas. Por lo que determina quien tiene mayor eficacia es la Indometacina 1% pasando las 96 horas de tratamiento, observación y monitoreo.

**Palabras claves:** *Plantago major*, Indometacina, eficacia antiinflamatoria, tópica, cutánea.



## ABSTRACT

In Peru there are multiples forms of traditional medicine, the most common being the use of plants to which medicinal properties are attributed, such as *plantago major* (pm), whose composition suggests multiple properties, including anti-inflammatory. In our review we found studies that evaluated their properties, with few using the topical route. Our work sought to find a more accessible anti-inflammatory effect with respect to the standard by topical via cutaneous of easy administration, required in slight, local and transitory pain.

In addition, today it is a problem for owners and for veterinarians to deal with adverse effects produced by the vast majority of animals. That's why one of our goals was to prove that a natural preparation, which will not generate side effects, is effective over one that does; another was to prove that there are effective products that are within the reach of low-income homeowners.

We estimate the efficacy of *Plantago major* 20% over Indomethacin 1% in the treatment of topical cutaneous inflammation in albino rats, in the Quinta Ritcher of the faculty of Veterinary Medicine of the UNPRG during the month of October 2018. Objective and subjective study, where 24 male albino rats of 8 months of age and weight of 250g were used; using a dose of 4g/kg/P. V via topical cutaneous route every 12 hours during 4 days.

The results obtained indicate that with 95% confidence the anti-inflammation efficacy of plantago major 20% is significantly less effective with respect to indomethacin 1 % via topical skin in albino rats. What determines who has greater efficacy 1% indomethacin passing the 96 hours of treatment, observation and monitoring.

**Key words:** Plantago major, indomethacin, anti-inflammatory efficacy, topical cutaneous.

## I. INTRODUCCIÓN

En la práctica diaria de la Medicina Veterinaria, nos encontramos con distintos casos clínicos; uno de ellos son procesos inflamatorios a causa de traumatismos, laceraciones, mal manejo de inyectables, entre otros. La inflamación es una respuesta protectora en la que participan las células del huésped, los vasos sanguíneos, las proteínas y otros mediadores, que tratan de eliminar la causa inicial de la lesión celular, además de las células y los tejidos necróticos causados por la agresión inicial; ejerce su función protectora contra los agentes lesivos, y a continuación, cicatriza y repara los focos de lesión y pese a su función en la destrucción y eliminación de microbios y tejidos muertos, pueden también ocasionar daños en los tejidos normales. La inflamación es clasificada en aguda y crónica.(6)

En la presente tesis se utilizó *Plantago major* e Indometacina de manera independiente para el tratamiento de inflamaciones agudas, y determinar cuál de ellos es más eficaz. En diferentes estudios se ha demostrado que el *Plantago major* posee propiedades antiinflamatorias; como en Oslo, Samuelsen en el 2000 aborda los usos del Pm, sus constituyentes químicos y actividades biológicas; concluyó que algunos de ellos poseen actividad antiinflamatoria como: Ácido ursocólico (un terpenoide) que ha demostrado tener un efecto inhibitor sobre las ciclooxigenasas 1 y 2 in vitro, inhibición de la liberación de histamina de los mastocitos, inhibición de elastasa y del complemento; Plantamajoside, que posee un efecto inhibitorio sobre el ácido araquidónico; Aucubina (glicosido iridoide), que tiene propiedades antiinflamatorias cuando se aplica tópicamente. (4)

Con la finalidad de brindar una solución sencilla y económica a las diversas patologías inflamatorias, un trabajo experimental realizado en México por Treviño, en el 2014, utilizó 20 ratas macho, a las que se generó una lesión de 2 cm de largo en la piel del cráneo, aplicando de forma tópica extractos de Pm en combinación con ZnO. Se utilizaron 4 grupos: 1) control, 2) lesión + extracto de Pm, 3) lesión + ZnO, 4) lesión + Pm + ZnO. Tomando como parámetro para evaluar resultados el porcentaje de retracción de la herida,

se concluyó que la terapia combinada con Pm y ZnO fue la que mostró la mayor eficacia terapéutica y aceleró la cicatrización generada en piel de rata. (6)

Un estudio realizado en el departamento de farmacología y toxicología en Van (Turquía) por Türel en el 2009 evaluaron las propiedades antiinflamatorias y hepatoprotectoras del Pm en ratas con hepatotoxicidad inducida con tetracloruro de carbono (CCL<sub>4</sub>), utilizó 6 grupos experimentales: uno control con solución salina, otro con Indometacina, y cuatro grupos con Pm con 5 mg/kg (PM-I), 10 mg/kg (PM-II), 20 mg/kg (PM-III) y 25 mg/kg (PM-IV). Encontrando que la reducción de la inflamación fue de 90,01% con Indometacina, 3.10% con PM-I, 41,56% con PM-II, 45,87% con PM-III y 49,76% con PM-IV. El valor de la mediana de dosis efectiva del Pm (ED<sub>50</sub>) fue 7.507 mg / Kg. (8)

Por lo expuesto anteriormente, basándonos en la práctica diaria, en propietarios de bajos recursos, y sabiendo que el *Plantago major* se comporta como un AINE (Analgésico-antiinflamatorio no esteroide); el objetivo de la investigación fue demostrar la eficacia antiinflamatoria tópica cutánea del *Plantago major* 20% comparado con la Indometacina 1% y su relación con las variables calor, rubor y edema.

## **II. OBJETIVOS:**

### **2.1. OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la eficacia antiinflamatoria del *Plantago major* 20% respecto a la Indometacina 1 % por vía tópica cutánea en ratas albinas.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Comparar los niveles plasmáticos de Proteína C reactiva (PCR) a lo largo del tiempo con la administración tópica de *Plantago major* 20 % (Llantén), Indometacina 1% y gel sin principio activo en ratas albinas.
- Comparar el tiempo en que desaparecen los signos clínicos de inflamación en los tres grupos de estudio (los que reciben Indometacina 1%, *Plantago major* 20% y gel sin principio activo) de ratas albinas en 0h, 12h, 24h, 36h, 48h, 60h, 72 h y 96h.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Antecedentes Bibliográficos

En nuestra revisión encontramos diversas investigaciones comprobándose las propiedades y eficacia antiinflamatoria del *Plantago major* por diferentes vías de administración, siendo uno de ellos los estudios realizados en Estocolmo (Suecia) por Zubair M, et al (2011), en Portugal por Gonçalves S, Romano A (2015) y en China por Wang D, et al (2016), con el objetivo de analizar los principios bioactivos y las propiedades farmacológicas del *Plantago major* (Pm), encontraron compuestos, tales como: polisacáridos (plantamajoside, verbajoside), glucósidos feniletanoides, flavonoides, derivados de guanidina, terpenoides, ácidos orgánicos y ácidos grasos. Poniendo en evidencia, que existen principios bioactivos con posibles utilidades farmacológicas que deben ser objeto de nuevas investigaciones<sup>1-3</sup>. Así como, una revisión realizada en Oslo, por Samuelsen (2000), en la cual se abordaron los usos, constituyentes químicos y actividades biológicas del Pm. Concluyó, que algunos de sus constituyentes químicos poseen actividad antiinflamatoria como: Ácido ursocólico (un terpenoide) que ha demostrado tener un efecto inhibidor sobre las ciclooxigenasas 1 y 2 in vitro, inhibición de la liberación de histamina de los mastocitos, inhibición de elastasa y del complemento; Plantamajoside, que posee un efecto inhibitorio sobre el ácido araquidónico; Aucubina (glicosido iridoide), que tiene propiedades antiinflamatorias cuando se aplica tópicamente<sup>4</sup>. Encontramos también un ensayo in vitro realizado en la universidad de Novi Sad (Serbia) por Beara IN, et al. (2010), con el objetivo de evaluar la actividad antiinflamatoria de especies seleccionadas de *Plantago* (*P. lanceolata* L. y *P. major* L.), mediante la determinación de su potencia inhibitoria sobre la COX-1 y 12-Lipooxigenasa. Utilizaron células intactas (Plaquetas) como fuente de enzimas COX-1 y 12-LOX y técnicas altamente sensibles y específicas para la detección de los principales metabolitos del ácido araquidónico formados por COX-1 y 12-LOX, obteniendo como resultado un efecto antiinflamatorio con una concentración requerida para una inhibición del 50% de 2,00 y

0,65 mg/ml, respectivamente de *P. lanceolata* y *P. major*<sup>5</sup>, obteniendo así más estudios que nos ayudaron en nuestra investigación.

Otro trabajo experimental realizado en México por Treviño, et al. (2014), con el objetivo de encontrar una manera sencilla y económica en el tratamiento de heridas, utilizó 20 ratas macho, a las que se generó una lesión de 2 cm de largo en la piel del cráneo, aplicando de forma tópica extractos de Pm en combinación con ZnO. Se utilizaron 4 grupos: 1) control, 2) lesión + extracto de Pm, 3) lesión + ZnO, 4) lesión + Pm + ZnO. Tomando como parámetro para evaluar resultados el porcentaje de retracción de la herida, se concluyó que la terapia combinada con Pm y ZnO fue la que mostró la mayor eficacia terapéutica y aceleró la cicatrización generada en piel de rata<sup>6</sup>. Tomando en cuenta las múltiples propiedades del Pm, las cuales pueden haber influido en el proceso de cicatrización (antibacteriana, antiinflamatoria, de proliferación y la propia actividad cicatrizante), es pertinente investigar la eficacia del efecto antiinflamatorio.

En una investigación realizada en el Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad Kebangsaan (Malasia) por Hussan F, et al. (2015), con el objetivo de determinar la propiedad antiinflamatoria de los extractos de hojas de Pm sobre la reacción inflamatoria producida por la hepatotoxicidad inducida con el acetaminofeno (APAP). Se dividieron 30 ratas macho del género Sprague-Dawle en 4 grupos: un grupo control, un grupo solo con la lesión, un grupo con lesión más Pm en solución acuosa y un grupo con lesión más Pm en solución de metanol. Encontró una atenuación de la respuesta inflamatoria mediante la reducción de los niveles de citoquinas proinflamatorias, y aumento de la enzima 11  $\beta$  -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 1 (11  $\beta$  -HSD tipo 1), concluyendo que los extractos de Pm tienen potencial en la atenuación de la respuesta inflamatoria mediante la reducción de los niveles de citoquinas proinflamatorias, con un mecanismo probable de producción local de glucocorticoides en los tejidos, siendo el efecto más pronunciado con la disolución en metanol<sup>7</sup>.

Otro estudio realizado en el departamento de farmacología y toxicología en Van (Turquía) por Türel I, et al. (2009) para evaluar las propiedades antiinflamatorias y hepatoprotectoras del Pm en ratas con hepatotoxicidad causada con la administración de tetracloruro de carbono (CCL5), utilizó 6 grupos experimentales: uno control con solución salina, otro con indometacina, y cuatro grupos con Pm con 5 mg/kg (PM-I), 10 mg/kg (PM-II), 20 mg/kg (PM-III) y 25 mg/kg (PM-IV). Encontrando que la reducción de la inflamación fue de 90,01% con indometacina, 3.10% con PM-I, 41,56% con PM-II, 45,87% con PM-III y

49,76% con PM-IV. El valor de la mediana de dosis efectiva del Pm (ED50) fue 7.507 mg / kg. Los investigadores concluyeron que el extracto de metanol de semillas Pm tiene efectos antiinflamatorios y hepatoprotectores, respaldando su uso tradicional, y plantean que se necesitan más estudios para evaluar mejor estas actividades<sup>8</sup>. Ambos hallazgos, ponen en manifiesto el potencial de Pm para ser utilizado como tratamiento alternativo o complementario en la reducción de lesiones mediadas por inflamación.

## **3.2. Bases Teóricas**

### **3.2.1. Inflamación**

La inflamación es una respuesta protectora en la que participan las células del huésped, los vasos sanguíneos, las proteínas y otros mediadores, que tratan de eliminar la causa inicial de la lesión celular, además de las células y los tejidos necróticos causados por la agresión inicial. Ejerce su función protectora contra los agentes lesivos, y a continuación, cicatriza y repara los focos de lesión. Pese a su función en la destrucción y eliminación de microbios y tejidos muertos, pueden también ocasionar daños en los tejidos normales.

**Clasificación.** La inflamación puede ser aguda o crónica.

La aguda aparece de forma rápida y dura poco, en general de unos pocos minutos a unos días; se caracteriza por la exudación de proteínas plasmáticas y líquido, y por la acumulación, predominantemente, de leucocitos.

La inflamación crónica puede ser más insidiosa, dura más tiempo (días a años), y se caracteriza por la presencia de linfocitos y macrófagos con proliferación vascular y fibrosis (cicatriz) asociadas. Sin embargo, estas dos formas básicas de inflamación pueden coexistir y muchas variables modifican su evolución y aspecto histológico<sup>9</sup>.

**Mecanismo fisiopatológico.** El proceso de inflamación tiene un componente local y otro sistémico. En el primero participan células como mastocitos, polimorfonucleares (PMNs) y el endotelio vascular. El componente sistémico está a cargo de la activación de los sistemas del complemento, coagulación y quininas, así como por la generación de metaloproteinasas, metabolitos del ácido araquidónico y citoquinas que, actuando sinérgicamente, producen vasodilatación localizada e incremento de la permeabilidad capilar para facilitar el paso a los tejidos de líquidos, células y moléculas.

### **Etapas del proceso:**

- Reconocimiento de lo extraño y de las alteraciones de lo propio: a través de receptores tipo Toll (TLRs), lectinas, pentraxinas o receptores tipo Nod (NLRs), se generan “señales de alarma”.
- Desgranulación de los mastocitos: liberan factores preformados como histamina y heparina, y en una segunda etapa, inician la síntesis de factores de la coagulación, leucotrienos y prostaglandinas.
- Activación del complemento: generación de factores que atraen y activan al sistema inmune innato para ampliar la respuesta inicial de defensa.
- Producción de citoquinas: la liberación de eicosanoides y factores del complemento induce la producción de factor de necrosis tumoral (TNF), IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17, IL-18 e IL-33, que actúan sobre diferentes células para estimularlas a producir otras citoquinas y quimioquinas encargadas de atraer y activar PMNs y monocitos e inducir la generación de diferentes subpoblaciones de linfocitos responsables de la inmunidad innata y adquirida.
- Activación de inflamasomas: complejos moleculares intracitoplasmáticos, compuestos por NLRs, proteínas adaptadoras, proscapasa 1, que al ser activada promueve el procesamiento y la secreción de citoquinas proinflamatorias.
- Incremento en el paso de leucocitos a los tejidos: en las células del endotelio vascular de los capilares próximos al sitio de la agresión, las citoquinas proinflamatorias, quimioquinas, leucotrienos e histamina inducen la expresión de moléculas de adherencia, que, al interactuar con sus ligandos presentes en los diferentes leucocitos, facilitan su unión al endotelio y posterior paso del torrente circulatorio a los tejidos. Los PMNs son los primeros leucocitos en ser llamados por las quimioquinas producidas por macrófagos y células NK. Acuden en minutos, e inician de inmediato la defensa contra los microorganismos invasores. Pasadas algunas horas, llegan más macrófagos y días más tarde linfocitos.

### **Mediadores de la inflamación:**

Son producidos por las distintas células del sistema inmune, por activación de sistemas enzimáticos. Los mediadores primarios se encuentran pre sintetizados en las células y son rápidamente secretados cuando se inicia un proceso inflamatorio. Los secundarios requieren un proceso de transcripción y traducción que tarda varias horas en desarrollarse.



### **Mediadores Primarios:**

Derivados de los PMNs. Elastasa, collagenasa, catepsina G, lactoferrina, PAF y quimioquinas.

Derivados de mastocitos y basófilos. Su Desgranulación puede ser inducida por mecanismos inmunológicos mediados por IgE y por factores físicos o químicos. Secretan las siguientes moléculas:

- Histamina. Actúa segundos después de ser liberada por los mastocitos. Tiene bajo peso molecular y una vida media de menos de un minuto, es rápidamente degradada hasta el aminoácido histidina. Es vasodilatadora, aumenta la permeabilidad capilar, induce la broncoconstricción y aumenta el peristaltismo intestinal. Su función biológica más importante es la de iniciar el proceso inflamatorio.
- Serotonina. En el ser humano la producen las plaquetas y no parece jugar un papel importante en la inflamación.
- Proteoglucanos. Los más importantes son los sulfatos de heparán, entre los cuales está la heparina, que actúa como antiinflamatoria por un doble mecanismo, bloquean las selectinas L y P y estimulan, en el hígado, la producción de histaminas, para desactivar la histamina.
- Quimioquinas. Las principales son: eotaxina, tetrapéptido ácido, cuya principal función es la de atraer eosinófilos al sitio de la inflamación; factor quimiotáctico y activador de los neutrófilos, conocido como IL-8 o CXCL8, que atrae hacia el endotelio capilar a los PMNs, CCL2, CCL7 y CCL12 que atraen a los macrófagos; y la CCL5 que atrae a los basófilos.

Derivados de las plaquetas. Producen factores quimiotácticos para PMNs, eosinófilos y linfocitos.

Generados por células endoteliales. Quimioquinas como la CXCL8 y citoquinas como IL-6 e IL-33.

### **Mediadores secundarios:**

Producidos por los Mastocitos. Eicosanoides (prostaglandinas y leucotrienos), y de metabolitos del oxígeno (O) y del nitrógeno (N).

Producidos por los Macrófagos. En la fase aguda de la inflamación se generan TNF e ILs 1, 6, 8 y 12. Los niveles del TNF se incrementan notoriamente a los 90 minutos de haberse

iniciado un proceso inflamatorio y se encarga de reforzar la acción de la IL-1 $\beta$  como pirógeno endógeno, y de incrementar en el endotelio vascular, la producción de quimioquinas y la expresión de moléculas de adherencia para los PMNs. Los macrófagos son fuente de eicosanoides y los principales productores de la IL-12, potente activadora de las NKs.

Mediadores producidos por el hígado. Por acción de IL-6, IL-1 y TNF, el hígado produce una serie de proteínas que se conocen con el nombre de proteínas de la fase aguda. Estas son: proteína C reactiva, fibrinógeno, proteína A sérica del amiloide, lectina ligadora de manosa, entre otras.

Mediadores producidos por los Linfocitos T. Son las IL-2, IL-5, IL-6, IFN $\gamma$ , IL-17 e IL-23. La IL-6 (pirógeno endógeno), actúa sobre células del centro termorregulador en el hipotálamo anterior.

Mediadores producidos por los fibroblastos. IL-6, IL-8 e IFN $\gamma$ .

**Eicosanoides.** Son moléculas que se generan a partir de los lípidos de membrana de varias células del sistema inmune por acción de citoquinas, trombina, bradiquinina, C5a y PAF, que activan la fosfolipasa, enzima que actúa sobre los lípidos de membrana para generar el ácido araquidónico. A partir de este, la enzima, la ciclooxygenasa genera:

- Prostaglandinas (PGs): secretadas de novo por casi todas las células del organismo. Las PGs G<sub>2</sub>, E<sub>2</sub>, D<sub>2</sub> y la prostaciclina, son en parte responsables de la vasodilatación y enrojecimiento que se presenta en los procesos inflamatorios. En menor grado, participan en la formación del edema al potencializar la acción de la histamina y de la bradiquinina. En el hipotálamo, la PGE<sub>2</sub>, es una de las moléculas responsables de la producción de la fiebre.

Por la acción de la tromboxano-sintetasa y/o de la prostaciclina-sintetasa se genera el tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) y la prostaciclina, moléculas que participan en la iniciación y control de los procesos de trombosis.

- Leucotrienos (LTs): Son producidos por acción de la 5-lipooxygenasa sobre el ácido araquidónico generado en PMNs, macrófagos y mastocitos. El LT-A<sub>4</sub> es inestable y de corta vida, sin función conocida, el LT-B<sub>4</sub> es un poderoso quimiotáctico para los PMNs. Los D<sub>4</sub> y E<sub>4</sub>, tienen acción anafilactoide y son potentes constrictores de las fibras musculares lisas.

- Otros eicosanoides: De otro lípido de membrana, el EPA (eicosapentaenoico ácido) se derivan las lipoxinas (LPXs), que frenan la producción de leucotrienos. La lipoxina A4, producida por las plaquetas frena el aflujo de PMNs y activa a los macrófagos a fagocitar los restos celulares y reparar los daños causados por la inflamación.

Entre las manifestaciones externas de la inflamación, se encuentran el calor, el eritema (rubor), la tumefacción (tumor), el dolor y la pérdida de función<sup>(10)</sup>.

### **3.2.1.1. Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs)**

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), son uno de los grupos de fármacos más prescritos a nivel mundial. Son útiles en el dolor reumático, tanto en enfermedades inflamatorias como degenerativas y por su poder analgésico.

Su uso en la población general, está muy extendido, incluso como automedicación, dado que con frecuencia se consigue sin receta ni control médico, con el consiguiente riesgo potencial de aparición de efectos secundarios.

### **3.2.1.2. Mecanismo De Acción**

Tener presente el apartado de mecanismo de acción de los AINE, ayuda a entender y prevenir los posibles riesgos y efectos secundarios. Los AINE tras su absorción y un primer paso hepático se unen fuertemente a la albúmina. Este hecho tiene interés en situaciones de hipoalbuminemia, como en la cirrosis o en artritis crónicas activas, planteando ajustar la dosis por el incremento de mayor concentración de fármaco libre. A dosis equivalentes, la eficacia de los distintos AINE es similar, aunque existe una respuesta individual variable<sup>(4)</sup>. También el riesgo de posibles efectos secundarios es variable entre los distintos AINE y los propios pacientes. Esta variabilidad incluye aspectos como la absorción, distribución y metabolismo de los fármacos, e incluso en los diversos mecanismos de acción propuestos. El mecanismo de acción de los AINE, no es único, como se describe a continuación:

### **3.2.1.3. Inhibición de la ciclo-oxigenasa (COX)**

Es el mecanismo principal, evitando la producción de prostaglandinas, que actúan como mediadores de la inflamación a nivel periférico y central. Inhiben la prostaglandina-sintetasa, afectando a la transformación del ácido araquidónico en prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano<sup>(5)</sup>. Se conocen 2 formas de la enzima

COX: COX-1 y COX-2: a) COX-1. Es una enzima constitutiva que se encuentra en la mayoría de los tejidos. Se encarga de regular procesos como la protección gástrica, agregación plaquetaria, función renal y la homeostasis vascular. Por tanto su inhibición puede provocar efectos secundarios a estos niveles. b) COX-2. Esta enzima habitualmente no se detecta en los tejidos y aparece de forma inducida en estados de inflamación. Su expresión se inhibe por todos los AINE y también por los corticoides. En estos casos, los llamados AINE selectivos, al inhibir preferentemente la COX-2, consiguen una acción antiinflamatoria sin los efectos secundarios, especialmente gástricos, al no inhibir la enzima COX-1.

### 3.2.1.4. Clasificación de los AINEs

Según su estructura química, los AINE se clasifican en diversos grupos (tabla 1), aunque su interés se centra más en conocer los que integran cada grupo, por si se tiene que cambiar de AINE, escoger de un grupo diferente.

Tabla 1: *Clasificación de los AINE según su estructura química*

Grupo terapéutico	Fármaco
Salicilatos	Acido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal, fosfosal, acetilato de lisina
Pirazolonas	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín, sulindaco, acemetacina
Arilacéticos	Diclofenaco, aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno
Oxicams y análogos	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Fenamatos	Acido mefenámico, meclofenamato
Inhibidores selectivos de la COX-2	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Tabla 2: *Clasificación de los AINE según vida media plasmática*

Analgésicos	Vida media corta (< 6 horas)	Vida media larga (> 6 horas)
Salicilatos	Acido acetilsalicílico, salsalato, acetilato de lisina	Diflunisal, fosofosal
Pirazolonas	--	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín	Sulindaco
Arilacéticos	Diclofenaco,	Aceclofenaco, nabumetona
Arilpropiónicos	Ibuprofeno, ketoprofeno, flurbiprofeno	Naproxeno
Oxicams y análogos	--	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Inhibidores selectivos de la COX-2	--	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

### 3.2.1.5.Eficacia

**Analgésica/antiinflamatoria:** A las dosis equivalentes, como se ha comentado, la eficacia de los distintos AINE es similar, aunque se sabe que existe una respuesta individual variable. Los AINE son el primer escalón de la escala analgésica de la OMS y pueden ayudar a disminuir la dosis de opiáceos y de este modo reducir efectos secundarios de los mismos.

**Antiagregación plaquetaria:** La agregación plaquetaria es una acción mediada por la COX-1 de forma exclusiva. La aspirina a dosis bajas provoca la inhibición de la agregación plaquetaria de forma irreversible. Este efecto, está demostrado que reduce el riesgo de eventos cardiovasculares trombóticos(9,10). De manera reversible, los AINE clásicos también pueden provocar esta inhibición, aunque en general, no se consiguen los mismos efectos a nivel cardiovascular que con la aspirina, por lo que se aconseja no retirar la aspirina si han de utilizarse de forma simultánea. Los COXIB, no presentan este efecto.<sup>10-11</sup>

### 3.2.2. Utilidad de la Proteína C REACTIVA (PCR):

Es una proteína de fase aguda que se produce en el hígado. Se encuentra en pequeñas cantidades en el plasma, pero se incrementa hasta en 10000 veces en las primeras 24 h de un proceso inflamatorio agudo<sup>10</sup>.

Su producción se incrementa en las primeras 4 a 6 h del inicio de la inflamación o del daño tisular agudo y llega a un pico a las 36-90 h (de 1,5 a 4 días). Los niveles de PCR se mantienen elevados mientras dura la inflamación, pero se reducen rápidamente con su resolución ya que tienen un tiempo de semivida de 4 a 7 h. En infecciones no complicadas, los valores de PCR se sitúan por debajo de 10 mg/l tras una semana de enfermedad<sup>11</sup>. No es un marcador de una enfermedad específica sino es un indicador general de inflamación. Por el método de turbidimetría, se consideran normales valores menores de 0.6 mg/dl, aunque concentraciones hasta 1 mg/dl no son inusuales. Las cifras de 1 a 10 mg/dl se consideran como moderadamente elevadas y como muy altas las mayores de 10 mg/dl. Los métodos usuales para la determinación de las concentraciones de PCR son menos precisos cuando éstas son menores de 1 mg/dl<sup>12</sup>. Recientemente, los laboratorios han desarrollado una versión altamente sensible de la prueba denominada PCR Ultrasensible (hs-CRP) que es capaz de medir incluso niveles mínimos de proteína C-Reactiva<sup>13</sup>. Su alta sensibilidad, es de gran utilidad para distinguir los niveles basales de PCR de niveles mayores que se

presentan durante la inflamación aguda, o incrementos moderados durante la inflamación crónica y en la evaluación del riesgo cardiovascular. De los marcadores inflamatorios actuales, la PCR ultrasensible proporciona la información más concreta en la práctica clínica<sup>12</sup>.

### **3.2.3. Plantago Major (LLANTÉN).**

Pm es una planta que pertenece a la división Magnoliópsida, clase Magnoliópsida, orden Plantaginales y a la familia Plantaginaceae.

Es de forraje perenne, que dura varios años, de hojas glabras, raíz corta y múltiples tallos que pueden o no tener ranuras y son igual o ligeramente más largos que las hojas. Sus hojas ovaladas con grandes venas principales y márgenes dentados tienen pecíolos relativamente largos. Desarrolla su ciclo de vida entre seis y siete meses. Posee una altura entre los 15 cm a 30 cm; sin embargo, su longitud puede variar según los distintos hábitats de crecimiento

Se encuentra generalmente en suelos con escasez de fósforo y potasio. En presencia de nitrógeno el número de hojas, la biomasa total incrementa, pero tiene un impacto limitado en el crecimiento de las raíces.

Por ser una planta de fácil localización, no se cultiva, se considera una maleza. Tiene amplia distribución geográfica en las praderas templadas del mundo. Crece naturalmente en el norte de Europa, Asia Central y América, es encontrada en casi todo el mundo<sup>(14,15)</sup>.

#### **Componentes químicos:**

Contiene 2 - 6,5% de mucílago, que está compuesto de al menos cuatro polisacáridos, 6,5% de taninos, emulsiones y un glucósido llamado Aucubina, diastasa, hetrozeida, materiales colorantes, pectina, plantagina, más de 1% de ácido salicílico, carboxílicos ácidos fenólicos, flavonoides, alcaloides (plantagonina e indican), terpenoides, vitamina C, minerales, incluyendo zinc, de potasio, ácido silícico, y saponina. Las semillas tienen muchos materiales glotinicos más ácido plantenólico, ácido succínico, adenina, colina, y aocoeina. El poder antioxidante de la planta puede ser debido a sus altos niveles de compuestos fenólicos. Los terpenoides aislados a partir de la cera de hoja contienen ursólico y ácido oleonolico, y son inhibidores de la progresión del tumor. Actósido y Plantamajosido son los principales derivados del ácido cafeico.

**Propiedades:**

Se utiliza tradicionalmente para el tratamiento de resfriados, hepatitis, enfermedades de la piel, enfermedades infecciosas, problemas relacionados con el aparato digestivo, respiratorio, reproducción, circulación, y para reducir la fiebre. También, ha sido utilizado como cataplasma para tratar úlceras varicosas, quemaduras, heridas, lesiones y mejorar las inflamaciones.

Se le han atribuido actividades biológicas, como: antiinflamatorio, antiviral, analgésico, antioxidante, anti-cáncer, antitumoral, anti-fiebre, inmunomodulador y anti-hipertensivo<sup>14</sup>.

**3.2.4. Indometacina**

La INDOMETACINA es un antiinflamatorio no esteroide derivado del ácido indolacético. Inhibe la actividad de la enzima ciclooxigenasa disminuyendo la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico. Aunque muchos de sus efectos terapéuticos y adversos se producen por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en distintos tejidos, otras acciones contribuyen en forma significativa a los efectos terapéuticos del medicamento. Como analgésico: por acción periférica debido a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Como antirreumático: la producción del factor reumatoide IgM puede disminuir con la INDOMETACINA; sin embargo, la droga no afecta el curso progresivo de la artritis reumatoide. Sólo actúa por mecanismos analgésicos y antiinflamatorios. Antipirético: por acción central sobre el centro hipotalámico que regula la temperatura corporal. Farmacocinética: Por vía oral se absorbe de manera rápida y completa en un 90% y en 4 horas se metaboliza en hígado, excretándose el 60% de la dosis por la orina (10 a 20% en forma inalterada), y el 33% por heces. Se excreta también por leche materna y no es dializable.<sup>15</sup>

Este medicamento existe comercializado en las siguientes formas de administración tópica (espray), oral (grageas, cápsulas) y rectal (supositorios).

**INDICACIONES TERAPÉUTICAS**

Indicado en dolores, inflamaciones y tumefacciones en artropatías degenerativas, enfermedades reumáticas de las partes blandas (tendinitis, inflamación de tejido muscular y capsular), lesiones por accidente (distorsiones, contusiones, distensiones), dolor e inflamación en enfermedades como artrosis en localizaciones periféricas, bursitis,

tendinitis, tenosinovitis. epicondilitis humeral, mialgias, contusiones, distensiones, lumbago, tortícolis, esguinces.; dolor, inflamación y edemas postraumáticos y postquirúrgicos en cirugía ortopédica y asociados a la inmovilización de fracturas y luxaciones.<sup>16-17</sup>

### **Efectos secundarios:**

Puede ocurrir irritaciones de la piel, por ejemplo: rubefacción, prurito, exantema, posiblemente eczema, que desaparecen en general al suspender el medicamento.

Los efectos adversos más frecuentes de la indometacina son: sequedad de piel, eritema, picor y sensación de quemazón cutánea.

Excepcionalmente puede producir fotodermatitis.<sup>18</sup>

---



## IV. DISEÑO METODOLÓGICO

### 4.1. Diseño de contrastación de hipótesis

Existe una gran variedad de diseños experimentales en animales, donde el más común y el que se adapta para cumplir con nuestros objetivos es el “**Diseño Completamente al Azar**”

20

### 4.2. Población y muestra

#### POBLACIÓN.

Se emplearon 24 ratas albinas de laboratorio (según criterios estadísticos, metodológicos y éticos) con certificación, vacunadas y desparasitadas.

El proceso de evaluación de la presente investigación se realizó en 3 grupos o tratamientos (T).

Grupo placebo (R).

Grupo al que se administra INDOMETACINA 1% vía tópica cutánea (I)

Grupo al que se administra *Plantago major* 20% vía tópica cutánea (P)

#### MUESTRA.

Según el criterio metodológico, en nuestros antecedentes, el número mínimo de Unidades experimentales - Ues (animales) por grupo utilizado para estudios experimentales con diseño similar fue 5<sup>6-8</sup>

Nuestro experimento cuenta con tres 3 grupos; por lo que la cantidad de ratas que debemos de usar debe ser metodológicamente mayor o igual a 15.<sup>20</sup>

Y estadísticamente el tamaño de la muestra es de 15 ratas albinas de laboratorio y fue determinada de la siguiente manera:

Dónde los valores son los siguientes:

$Z_{1-\alpha/2}$ : Nivel de significancia al 95%, por lo que esta toma el valor de 1.96.

$\delta$ : Desviación estándar según los antecedentes es de  $\pm 2$

N: Total de ratas albinas de laboratorio

$e$ : El error de la estimación (determinado en 0.4)

$$n = \frac{Z^2 \cdot \delta^2 \cdot N}{e^2(N - 1) + Z^2 \cdot \delta^2}$$

$$n = \frac{1.96^2 \cdot 2^2 \cdot 24}{0.4^2(24 - 1) + 1.96^2 \cdot 2^2}$$

$$n = \frac{368.79}{25.57}$$

$$n = 15$$

En el periodo de prueba, se ilustran 3 grupos de ensayo (Indometacina 1%, Pm gel 20% y Gel sin principio activo) con 8 Unidades Experimentales (Ues) por grupo que recibirán inducción inflamatoria y vigilancia de los niveles de PCR plasmático y características clínicas inflamatorias.

Cada grupo, previa inducción de inflamación (0,2 ml de carragenina 2%) recibió un tratamiento tópico (*Plantago major* gel 20%, Indometacina 1% y gel sin principio activo).

Durante el periodo de prueba determinamos el PCR basal, y pasadas 12, 24, 48, 72 y 96 h del inicio del tratamiento tópico cutáneo, se extrajo sangre (según método de Lee y Gonsens), para monitorizar PCR plasmático. Se analizó estadísticamente con la prueba de Duncan.

A partir de recomendaciones dadas por los comités de ética para manejo de animales de experimentación tenemos criterios de inclusión, exclusión y de eliminación.<sup>20</sup>

### **Criterios de inclusión.**

Se incluirán los animales de experimentación de:

- Ratas albinas de laboratorio.
- Sexo masculino.
- Peso mayor a 250 g.
- Con examen físico normal.

- PCR basal dentro de rangos normales (Se considerará normal entre la media y  $\pm 2ds$ ).
- Edad promedio 5 a 8 meses.

#### **Criterios de exclusión.**

No serán incluidos en el estudio los animales con:

- Examen físico patológico
- Niveles de PCR basal alterados

#### **Criterios de eliminación:**

- Ratas que no respondan a la inducción de inflamación
- Animales que fallezcan durante la experimentación

### **4.3. Técnicas, instrumentos, equipos y materiales**

#### **4.3.1. Técnica e Instrumentos de recolección de datos**

##### **Toma de muestra.**

Se tomarán las muestras de sangre en la vena lateral de la cola de la rata, según la técnica propuesta por Lee y Gonsens y recomendada por el National Centre for the Replacement & Reduction of Animals in Research (NC3Rs) <sup>21,22</sup>.

El volumen recolectado será de 0,5 ml de sangre venosa por muestra. Este valor se adapta a las recomendaciones ya establecidas. <sup>23</sup>

Para muestra repetidas, en las que se extrae 10-15% de sangre en 24 horas tiene que pasar un periodo aproximado 2 semanas para recuperar sus pérdidas.

Una rata de 250g tiene un volumen de sangre de 16 ml, en donde el 10% es 1,6 ml. Por otra parte, nuestro experimento en las primeras 24 horas se tomará 1,5 ml de sangre (Tres muestras de 0,5ml cada una) y luego cada 24 horas 2 muestras más, lo que hace en promedio de 4ml en total en muestras (Equivalente al 20% de sangre en una rata de 250g). Para tener porcentajes menores de sangre extraída se homogenizarán las ratas con pesos mayores a 250g <sup>23</sup>.

**Lectura de muestras.** Se usará el método turbidimétrico en un laboratorio particular colaborador.

**Clasificación de datos.** Los datos experimentales se recolectarán en una base de datos. (ver ANEXO 9 y 10)

#### 4.3.2. Materiales y métodos

- Balanza
- Equipos de contención
- Jaulas
- Bebederos y comederos
- Equipo de lavado de manos
- Caja de guantes y mascarillas
- Agua destilada o suero fisiológico
- Plumón indeleble
- Alcohol etílico al 70%
- Algodón o gasas
- Jeringas (1 o 5ml)
- Agujas (23G)
- Baño maría
- Laptops
- Impresora hp pro pfficeiet pro x476dw
- Lapiceros, corrector
- Papel blanco A4 de 75g
- Libros, revistas y material académico
- *Plantago major* 20%
- Carragenina no gelificante, Kappa y Delta 2%
- Indometacina Espray 1%
- Gel sin principio activo
- EMLA crema (prilocaína + lidocaína)

##### 4.3.2.1. Método inmuntubidimétrico para la determinación cuantitativa de proteína

###### C reactiva (PCR):

- Reactivo A: solución fisiológica tamponada, pH 8.2. Conservante
- Reactivo B: Anticuerpos monoespecíficos anti-PCR
- PCR calibrador en serie SPINLAB 180
- Solución fisiológica.
- Espectrofotómetro.

- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro

#### 4.4. Ejecución de los Tratamientos (T)

Para el presente trabajo de investigación se decidió trabajar por conveniencia con 24 ratas albinas, las cuales portaban las condiciones requeridas para ser sometidas al experimento (sexo, edad, tamaño, nivel PCR normal, saludables). Luego procedimos a clasificarlas en 3 grupos con los tratamientos respectivos: Placebo (T1); *Plantago major* (T2) e Indometacina (T3).

Posteriormente se preparó la Carragenina al 2% e inducimos la Inflamación a cada Ues (Unidad experimental) con 0.2 ml de la misma; formándose un pápula.

Iniciamos la ejecución de los tratamientos el día 9 de octubre a las 7:00 a.m. obteniendo las muestras (0.5 ml de sangre por rata) de cada grupo para saber con qué niveles de PCR están siendo sometidas. Para calcular la cantidad de gel, el farmacéutico nos facilitó una paleta especial para medir 1g de producto y empezamos con la aplicación del tratamiento al grupo T1 (Placebo) que corresponde a las Ues enumeradas del 9-16, untamos 4g/kg del Gel sin principio activo sobre la zona afectada cada 12 horas por 4 días.

Continuamos con la aplicación del tratamiento al grupo T2 (*Plantago major* 20%) que corresponde a las Ues enumeradas del 17-24, untamos 4g/kg del gel *Plantago major* 20% sobre la zona afectada cada 12 horas por 4 días.

Finalmente aplicamos el tratamiento al grupo T3 (Indometacina 1%) que corresponde a las Ues enumeradas del 9-16, aplicamos 4g/kg de Indometacina 1% que equivale a rociar 3 veces el spray sobre la zona afectada cada 12 horas por 4 días. Culminando la aplicación de los tratamientos a cada grupo respectivamente, colocamos un parche de gasa para evitar lamidos y extracción del producto.

Las muestras fueron extraídas cada 12h (0.5ml de sangre en tubos mini Collect sin anticoagulante); cada muestra fue rotulada con la letra del grupo, número de Ues (unidades

experimentales) y hora de toma de muestra. Después de extraer todas las muestras, diariamente se centrifugó cada una en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria; obteniendo así el suero sanguíneo (que fue transportado en tubos especiales) para el respectivo análisis y determinación de la cantidad de PCR cuantitativo mediante un lector PCR-turbilátex.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Resultados finales de la medición de pcr de las UES (unidades experimentales)

**CUADRO 1: NIVELES PLASMÁTICOS DE PCR OBTENIDOS A PARTIR DE LA PRUEBA DE DUNCAN**

	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 ( Indometacina )
0 horas	4.24875 <sup>a</sup>	3.385 <sup>a</sup>	2.3025 <sup>a</sup>
12 horas	6.3575 <sup>b</sup>	4.84 <sup>b</sup>	5.07875 <sup>b</sup>
24 horas	3.4925 <sup>a</sup>	2.28125 <sup>a</sup>	2.24875 <sup>a</sup>
36 horas	4.9775 <sup>a</sup>	2.93875 <sup>b</sup>	2.31875 <sup>b</sup>
48 horas	3.12625 <sup>a</sup>	3.00125 <sup>a</sup>	2.3125 <sup>a</sup>
60 horas	4.89 <sup>a</sup>	3.2675 <sup>ab</sup>	2.04375 <sup>b</sup>
72 horas	3.86375 <sup>a</sup>	1.57875 <sup>b</sup>	1.98125 <sup>b</sup>
96 horas	4.24375 <sup>a</sup>	2.77625 <sup>ab</sup>	1.78 <sup>b</sup>

Los niveles plasmáticos obtenidos de la lectura de cada muestra fueron plasmados en una base de datos, al cual aplicamos un análisis de varianza obteniendo como resultados que a las 0 horas, 12 horas y 24 horas no se encontraron diferencias significativas lo que nos indica que hasta ese momento son iguales. A las 36 horas los resultados nos muestran que hay diferencias significativas por lo que nos sugiere aplicar la prueba de Duncan, para obtener datos más específicos en cuánto la eficacia antiinflamatoria.

Posteriormente, a las 48 horas los resultados demuestran que no hay diferencias significativas lo que no debería ser normal; así que indagamos y nos planteamos que podría deberse a que se generaron lesiones producto de una pelea ya que no las alimentamos a tiempo.

A las 60 horas, 72 horas y 96 horas encontramos diferencias significativas, por lo cual también aplicamos la prueba de Duncan y los resultados serán explicados en el siguiente párrafo.

Después del análisis de varianza y encontrando diferencias significativas se aplicó la prueba de Duncan la cual fue interpretada por las letras pequeñas (**cuadro 01**), que denotan diferencias significativas ( $\alpha=0,05$ ). A las 36 horas, la prueba de Duncan demuestra que la media del T2 y T3 siguen siendo iguales y la media del T1 es diferente a los ya mencionados. A las 48 horas no existen diferencias significativas entre los tratamientos. A las 60 horas, la prueba de Duncan demuestra que la media del T1 es igual a la media del T2 y la media del T2 es igual a la media del T3, solo la media del T1 es diferente a la media del T3. A las 72 horas, la prueba de Duncan demuestra que la media del T2 y T3 son iguales y la media del T1 es diferente a ambos.

A las 96 horas, la prueba de Duncan demuestra que la media de los T2 y T3 son iguales, la media del T1 es igual a la media T2, solo la media del T1 es diferente a la media del T3.

A partir de los resultados de esta investigación a las que fueron sometidas 24 ratas albinas con una pápula inducida con carragenina, para el tratamiento con *Plantago major* (Llantén) e Indometacina en la Quinta Ritcher de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNPRG, se discute lo siguiente:

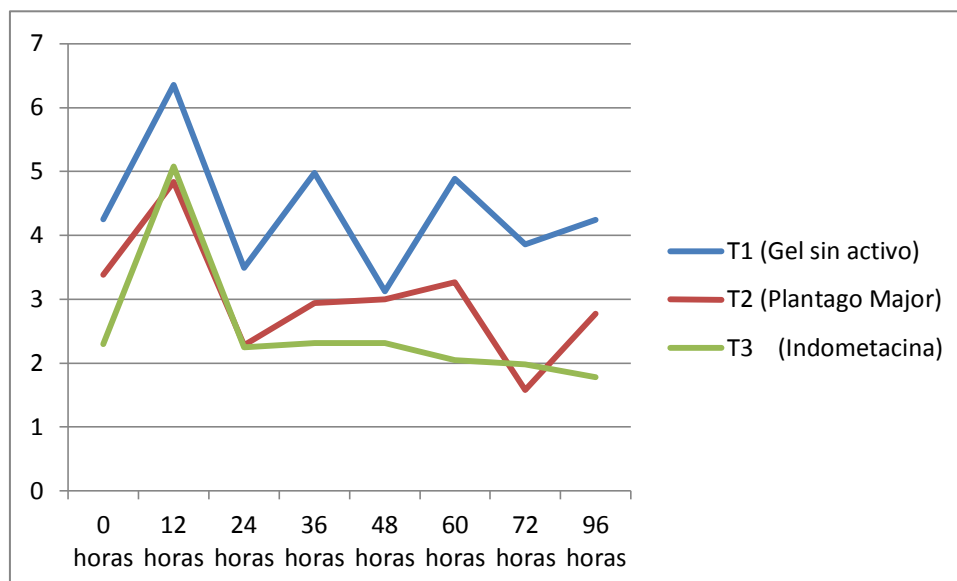
La reducción de la inflamación de las Ues tratadas con Indometacina fue de 82,2% y PM 72,2%; estos resultados tienen similitud con la investigación de Türel I, et al. (2009) en dónde evaluó las propiedades antiinflamatorias y hepatoprotectoras del Pm en ratas con hepatotoxicidad causada con la administración de tetracloruro de carbono (CCL5), utilizando 6 grupos experimentales: uno control con solución salina, otro con indometacina, y cuatro grupos con Pm con 5 mg/kg (PM-I), 10 mg/kg (PM-II), 20 mg/kg (PM-III) y 25 mg/kg (PM-IV). Encontrando que la reducción de la inflamación fue de 90,01% con indometacina, 3,10% con PM-I, 41,56% con PM-II, 45,87% con PM-III y 49,76% con PM. (8)

Nuestro estudio es complementario al ensayo in vitro realizado en la universidad de Novi Sad (Serbia) por Beara IN, et al. (2010), con el objetivo de evaluar la actividad antiinflamatoria de especies seleccionadas de *Plantago* (*P. lanceolata* L. y *P. major* L.), mediante la determinación de su potencia inhibitoria sobre la COX-1 y 12-Lipooxigenasa. Utilizaron células intactas (Plaquetas) como fuente de enzimas COX-1 y 12-LOX y técnicas altamente sensibles y específicas para la detección de los principales metabolitos del ácido araquidónico formados por COX-1 y 12-LOX, obteniendo como resultado un



efecto antiinflamatorio con una concentración requerida para una inhibición del 50% de 2,00 y 0,65 mg/ml, respectivamente de *P. lanceolata* y *P. major* (5). Lo cual nos sugirió una potencialidad importante para el estudio de su efecto antiinflamatorio por vía tópica, siendo que la mayoría utilizaron técnicas in vitro y la vía oral.

**GRÁFICO 1: COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS DE PCR PARA CADA TRATAMIENTO A LAS 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 Y 96 HORAS RESPECTIVAMENTE SEGÚN LOS DATOS OBTENIDOS DEL CUADRO 01.**



Podemos observar que la línea verde (Indometacina 1%) alcanza un pico alto a las 12 horas, disminuyendo a las 24 horas y permaneciendo así hasta las 48 horas. Se reduce antes de las 60 horas y se mantiene así hasta las 72 horas. A las 96 horas disminuye considerablemente. ( $\alpha=0.05$ )

En el caso de la línea roja (Plantago mayor 20%) alcanza un pico alto a las 12 horas, disminuyendo a las 24 horas pero incrementa a las 36 horas y se mantiene así hasta las 60 horas; luego disminuye a las 72 horas e incrementa nuevamente hasta las 96 horas.

La línea azul (Gel sin activo) alcanza un pico alto a las 12 horas, disminuye hasta las 24 horas pero incrementa hasta las 36 horas y vuelve a disminuir hasta las 48 horas. Aumenta hasta las 60 horas, disminuye hasta las 72 horas e incrementa ligeramente hasta las 96 horas.

En este gráfico se demuestra que la Indometacina 1% es más eficaz a comparación del *Plantago mayor* 20%, ya que reduce considerablemente la inflamación según los datos adquiridos a nivel plasmático.

**CUADRO 2: RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN CLÍNICA Y CONTROL DE ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS TÓPICAS EN RATAS ALBINAS A PARTIR DE LA PRUEBA DE DUNCAN**

	T1(Placebo)	T2( <i>Plantago major</i> )	T3(Indometacina)
0 horas	0.41625 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
12 horas	4.995 <sup>a</sup>	3.33 <sup>b</sup>	3.33 <sup>b</sup>
24 horas	8.325 <sup>b</sup>	7.07625 <sup>b</sup>	7.4925 <sup>b</sup>
36 horas	9.99 <sup>a</sup>	8.325 <sup>a</sup>	9.1575 <sup>a</sup>
48 horas	9.99 <sup>a</sup>	8.325 <sup>ab</sup>	6.24375 <sup>b</sup>
60 horas	9.1575 <sup>a</sup>	6.24375 <sup>b</sup>	4.1625 <sup>b</sup>
72 horas	8.325 <sup>a</sup>	4.995 <sup>ab</sup>	1.665 <sup>b</sup>
96 horas	8.325 <sup>a</sup>	1.665 <sup>a</sup>	0.8325 <sup>b</sup>

En el cuadro 02 tenemos los resultados obtenidos a partir de la evaluación clínica, los cuales fueron transferidos a una base de datos y posteriormente realizar el análisis de varianza.

A las 0 horas, al sacar los promedios, los resultados arrojan que no hay diferencias significativas. Por el contrario, a las 12 horas sí muestran diferencias significativas por lo que se aplicó la prueba de Duncan para así obtener resultados específicos. ( $\alpha=0.05$ )

Luego, a las 24 y 36 horas no se muestran diferencias significativas, lo cual no debería ser normal; por ende indagamos y planteamos que se debió a que muchas de las ratas se sacaron las gasas, se lamieron entre sí quitándose el producto administrado y reduciendo así el efecto antiinflamatorio; es por ese motivo que aseguramos de otra manera las gasas.

Continuando con los resultados, podemos notar que a las 48, 60, 72 y 96 horas hay gran diferencia significativa por lo que aplicamos la prueba de Duncan; los resultados de tal prueba serán explicados a continuación.

Siguiendo con la explicación de los resultados, la prueba de Duncan se interpreta a través de letras (cuadro 02). Empezaremos por los resultados obtenidos a las 12 horas, según Duncan la media del T1 (Placebo) es distinta a la media del T2 (*Plantago major*) y el T3 (Indometacina) pero la media del T2 es igual a la del T3.

Luego, a las 24 y 36 horas no hay diferencias significativas por lo que no se aplicó la prueba de Duncan.

Para los resultados de las 48 horas si se aplicó la prueba de Duncan ya que muestran diferencias significativas, obteniendo así que la media del T1 es diferente a la media del T3 pero igual a la del T2 y la media del T2 es igual a la del T3.

A las 60 horas podemos observar que la media del T1 es diferente a la media del T2 y T3 pero las medias de los T2 y T3 son iguales.

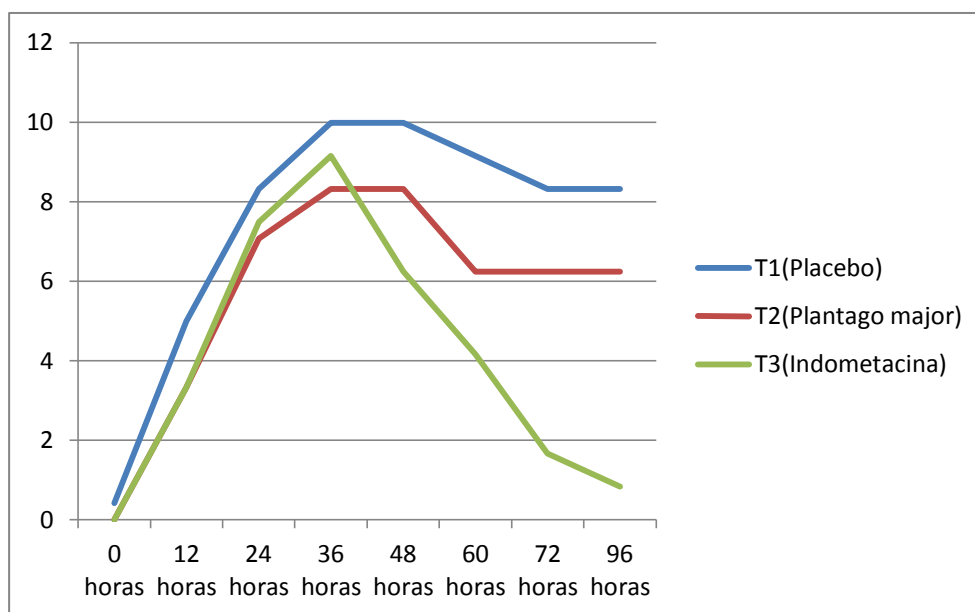
A las 72 horas las medias de T1 y T2 son iguales, pero la media del T2 es igual a la del T3; siendo esta última diferente a la del T1.

A las 96 horas las medias del T1 y T2 siguen siendo iguales pero diferentes que la media del T3.

De acuerdo a la interpretación de los resultados obtenidos a partir de la prueba de Duncan podemos decir que, el grupo que fue tratado con Indometacina 1% (T3) resultó más eficaz que el grupo tratado con *Plantago major* 20% (T2) porque los signos visibles de la inflamación redujeron por completo en el T3 (Indometacina); en cambio, en el T2 algunas Ues (unidades experimentales) aún presentaban signos de la inflamación.

A partir de este análisis, podemos denotar la diferencia entre los resultados a nivel de Proteína C reactiva y resultados a nivel de Signos visibles ya que la eficacia antiinflamatoria producida tanto por el *Plantago major* 20% como la de la Indometacina 1%, se expresa primero en la observación de los signos visibles y posteriormente a nivel plasmático. Así como sucede a las 48h en el análisis de nivel de PCR, los valores se alteraron por agentes externos, sin embargo los cambios en la reducción de la Inflamación (Edema, rubor, calor) mantuvieron su curso.

**GRÁFICO 2: COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN CLÍNICA Y CONTROL DE ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS TÓPICAS EN RATAS ALBINAS.**



En el gráfico podemos observar que la línea azul (T1= placebo) va aumentando gradualmente hasta entre las 24 y 36 horas, se mantiene hasta las 48 horas y disminuye hasta las 72 horas. Esta secuencia se mantiene hasta las 96 horas.

La línea roja (T2= *Plantago mayor*) va aumentando hasta las 36 horas, luego se mantiene hasta las 48 horas y disminuye a las 60 horas manteniéndose así hasta las 96 horas.

La línea verde (T3= Indometacina) aumenta hasta las 36 horas, disminuyendo considerablemente hasta las 72 horas y sigue bajando hasta las 96 horas, coincidiendo así con los resultados (cuadro 02) ya que para este momento no había ningún signo visible de inflamación.

En general y según la interpretación de cada cuadro y gráfico podemos decir que el tratamiento a base de indometacina resultó más eficaz que el tratamiento a base de *Plantago mayor*. Esto nos deja comentar lo siguiente, comparando el cuadro 01 y el cuadro 02 podemos notar que externamente en el grupo T3 ya no hay signos visibles de la inflamación pero internamente de acuerdo a los valores de PCR aún hay niveles considerables de la inflamación.; o sea, si externamente ya no hay signos y eso nos indica que no hay inflamación, esto no significa que a niveles plasmáticos suceda lo mismo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. En caso de inflamaciones dérmicas causadas por traumatismos, golpes, accidentes en animales; sugerimos a partir de esta investigación, el uso del llantén tanto como el de la Indometacina por vía tópica, teniendo en cuenta que la eficacia antiinflamatoria es mayor en la Indometacina.
2. Recomendamos el estudio con otras plantas semejantes (con el mismo efecto antiinflamatorio) como sábila, matico, romero, orégano, cúrcuma, entre otras. Teniendo en cuenta el tratamiento paliativo para el cual se usa.
3. Probar los antiinflamatorios estudiados en este trabajo de investigación (Gel a base de Llantén e Indometacina) en otras concentraciones, por otras vías de administración y en otras especies animales.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zubair M, Nybom H, Lindholm C, Rumpunen K. Major polyphenols in aerial organs of greater plantain (*Plantago major* L.), and effects of drying temperature on polyphenol contents in the leaves. *Sci Hortic*. 10 de mayo de 2011; 128(4):523-9.
2. Gonçalves S, Romano A. The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (*Plantaginaceae*). *Ind Crops Prod*. 2016; 83:213-26.
3. Wang D, Qi M, Yang Q, Tong R, Wang R, Bligh SWA, et al. Comprehensive metabolite profiling of *Plantaginis* Semen using ultra high-performance liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry coupled with elevated energy technique. *J Sep Sci*. 1 de mayo de 2016;39(10):1842-52.
4. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol*. 2000; 71(1-2):1-21.
5. Beara IN, Orcić DZ, Lesjak MM, Mimica-Dukić NM, Peković BA, Popović MR. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry study of anti-inflammatory activity of plantain (*Plantago* L.) species. *J Pharm Biomed Anal*. 5 de septiembre de 2010; 52(5):701-6.
6. Treviño S, Aguila-Rosas J, Gonzalez-Coronel MA, Carmona-Gutierrez G, Rubio-Rosas E, López-López G, et al. Estudios preliminares de caracterización y acción cicatrizante de nanomatrices de ZnO con extracto de *Plantago major* en la piel de rata. *Rev Mex Cienc Farm*. 2014; 45(4):1-7.
7. Hussan F, Mansor AS, Hassan SN, Tengku Nor Effendy Kamaruddin NT, Budin SB, Othman F. Anti-Inflammatory Property of *Plantago major* Leaf Extract Reduces the Inflammatory Reaction in Experimental Acetaminophen-Induced Liver Injury. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM* [Internet]. 2015 [citado 22 de abril de 2016];2015. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4537734/>
8. Türel I, Ozbek H, Erten R, Oner AC, Cengiz N, Yilmaz O. Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. *Indian J Pharmacol*. junio de 2009;41(3):120-4.
9. Aster J, Abbas A, Kumar V. *Patología Humana*. 9.<sup>a</sup> ed. Elsevier; 2013.
10. Rojas W, Anaya J, Aristizábal B, Cano L, Gómez L, Lopera D. *Inmunología de Rojas*. 17.<sup>a</sup> ed. CIB; 2015.

11. Llor C, Moragas A. Cómo utilizar la proteína C reactiva. *Form Médica Contin En Aten Primaria*. enero de 2014;21(1):30-2
12. Gonzáles L, Molina J. Evaluación de la inflamación en el laboratorio. 2010;17.
13. Jihkson V. Proteína C-Reactiva [Internet]. Asociación Mexicana de Médicos e Investigadores del Mangostán, AC. [citado 1 de julio de 2016]. Disponible en: [http://www.ammim.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=20:proteina%C2%ADc%C2%ADreactiva&catid=3:articulos%C2%ADmedicos&Itemid=56](http://www.ammim.org/index.php?option=com_content&view=article&id=20:proteina%C2%ADc%C2%ADreactiva&catid=3:articulos%C2%ADmedicos&Itemid=56)
14. Haddadian K, Haddadian K, Zahmatkash M. A review of Plantago plant. *Indian J Tradit Knowl*. 2014; 13:681-5.
15. Blanco B, Saborio A, Garro G. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de Plantago mayor. *Tecnol En Marcha*. junio de 2008;21.
16. L.F.Villa, editor. *Medimecum, guía de terapia farmacológica*. 16 edición. España: Adis; 2011.
17. Guía de Prescripción Terapéutica AEMPS. Información de medicamentos autorizados en España. Pharma editores; Barcelona 2006
18. Micromedex Healthcare® Series [base de datos en Internet]. Greenwood Village, Colorado: Thomson MICROMEDEX DRUGDEX® System. 1974-2012. Disponible en: <http://www.thomsonhc.com/home/dispatch>
19. Gras JA. Estudios longitudinales de medidas repetidas: modelos de diseño y de análisis. *Av En Medición*. 2007;5(1):9-26
20. Navarro JA, Ramírez RA, Villagrán C. Manual de Procedimientos Recomendables para la Investigación con Animales. 1. A ed. Samsara; 2012. 100-101 p
21. Lee G, Goosens KA. Sampling blood from the lateral tail vein of the rat. *J Vis Exp JoVE*. 2015;(99): e52766
22. National Centre for the Replacement & Reduction of Animals in Research. Rat: Tail vein (non-surgical) | NC3Rs [Internet]. Experimental Design Assistant. [citado 10 de julio de 2016]. Disponible en: <https://www.nc3rs.org.uk/rat-tail-vein-non-surgical#technique>
23. Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol JAT*. febrero de 2001;21(1):15-23.
24. Federación, D. O. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. DF Diario Oficial de la Federación; 2001.



25. Arencibia DF, Rosario LA, Suárez YE, Soroa Y. Consideraciones importantes acerca de la cuarentena de ratas y ratones como biomodelos experimentales en toxicología. Revisión. Vet Arg [Internet]. 2010 [citado 5 de julio de 2016]; Vol. XXVII –No 271. Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2010/11/consideraciones-importantes-acerca-de-la-cuarentena-de-ratas-y-ratones-como-biomodelos-experimentales-en-toxicologia-revision/>
26. Machholz E, Mulder G, Ruiz C, Corning BF, Pritchett-Corning KR. Manual Restraint and Common Compound Administration Routes in Mice and Rats. J Vis Exp [Internet]. 26 de septiembre de 2012 [citado 5 de julio de 2016];(67). Disponible en: <http://www.jove.com/video/2771/manual-restraint-common-compound-administration-routes-mice>
27. Muñoz JJ, Saldivar S, Maldonado C, Muñoz CY, Moreno MA. La habilidad para sujetar y manejar animales de laboratorio no se adquiere fácilmente. Rev Electrónica Vet. 2011;12.
28. Morton DB, Jennings M, Buckwell A, Ewbank R, Godfrey C, Holgate B, et al. Refining Procedures for the Administration of Substances. Laboratory Animals; 2001.

## VIII. ANEXOS

### ANEXO N° 1: Consideraciones para el desarrollo del diseño de investigación

#### PERIODO PRELIMINAR

El **periodo preliminar** incluye la obtención, aclimatación y manejo de las Ues (Ratas albinas), que posteriormente serán seleccionadas según criterios de inclusión y exclusión.

#### Cuidado y uso de animales

Hay condiciones del ambiente que pueden influir en la respuesta de los animales a la experimentación, éstas se separan en tres categorías de variables no experimentales: variables físicas, variables químicas y variables microbiológicas.

- **Variables físicas.** Incluye el diseño y construcción de la caja o jaula, la temperatura, humedad, ventilación, intensidad de luz y fotoperiodo, ruido, cama, sistemas de bebederos, comederos, sistemas de alojamiento, transporte y manejo.
- **Las variables químicas.** Incluyen los contaminantes del alimento, del agua, cama y aire.
- **Las variables biológicas.** Enfermedades virales, bacterianas.

El total de todos los factores incluidos en las tres categorías descritas combinadas con el bagaje genético de los animales constituyen lo que Russell y Burch (1959) denominaron **fenotipo**.

Para controlar el **genotipo** de las Ues, se adquirirán Ratas albinas de la misma especie, genéticamente definidas, provenientes de un criadero confiable y honrado con certificación.

El **fenotipo** puede ser influenciado por condiciones ambientales que se presentan regularmente en las instalaciones en donde los animales son criados; y está determinado por el genotipo y el desarrollo ambiental, en cambio el **dramatipo** (Microambiente, Condiciones en la jaula) lo constituye el fenotipo y el ambiente inmediato.

Para uniformizar el **dramatipo**, las condiciones ambientales en las cuales los animales son utilizados deben ser controladas al máximo.

## 1. Factores físicos

- 1.1 Diseño de la caja (Jaula).** Será construida con malla de alambre soldado y armazón de madera, a una altura de 60cm sobre la superficie y con diámetros de 30cm x 50cm x 35 cm (Ancho x Largo x Altura) con un volumen total de 52'500 cm<sup>3</sup>. En la base contendrá un soporte de madera (30cm x 50cm y sobre él una cama de viruta de madera sin polvo. Accesorios: Bebederos, Comederos, refugios<sup>24</sup>.

**Dimensiones mínimas del área según el peso de las ratas<sup>24</sup>.**

Weight(g)	Floor Area/Animal*	
	In. <sup>2</sup>	Cm <sup>2</sup>
Up to 100	17	110
101-200	23	150
201-300	29	190
301-400	40	260
401-500	60	390
Over 500	70	460

\* Cage height should be at least 7 in. (17.78cm).

Source: ILAR (1997).

- 1.2 Temperatura y humedad.** La temperatura óptima en el macroambiente para las ratas en laboratorio es de 18 a 26 °C (Promedio 23°C) y la humedad recomendada 40-70% (Promedio 68%)<sup>24</sup>.
- 1.3 Ventilación.** Importante para oxigenar, dar calor y remover metabolitos en el ambiente como el amoníaco. Lo más ideal es un sistema para proporcionar de 10 a 15 recambios de aire por hora.
- 1.4 Luz.** El fotoperiodo o ciclos de luz / oscuridad pueden modificar al comportamiento reproductivo, ritmos circadianos y visión. Un ciclo de luz diario de 12 a 14 horas es usualmente recomendado para la mayoría de las especies. Se recomienda una intensidad de luz en los cuartos de los animales es 75-125 fc (fotocandelas). Valores superiores pueden degenerar la retina<sup>37</sup>.
- 1.5 Ruido.** Se recomienda que los niveles de ruido en las instalaciones de los animales no sobrepasen los 85 decibeles (db).
- 1.6 Accesorios de la caja.** Se incluirá escondites.

- 1.7 Tamaño de la caja y número de animales alojados.** Las jaulas son construidas de acuerdo a los criterios de peso y por ser un animal sociable se alojará dos ratas por caja.

## **2. Manejo de animales de laboratorio.**

- 2.1 Alimentación y provisión de agua.** El alimento se proporcionará a libre acceso, y consistirá en una fórmula nutricional constante y certificado en cuanto a su composición.

Se recomienda ofrecer alimento mínimamente 2 veces/semana, luego establecer una media entre ambos. Suministrar cantidad equivalente al 10% del peso vivo del animal multiplicado por el número de animales de la caja.

La fórmula se adquirirá conforme a las recomendaciones que se describen en el siguiente cuadro de alimentación general para roedores de laboratorio en base seca para cubrir las necesidades de crecimiento, gestación, lactación y mantenimiento<sup>24</sup>.

### **Composición bromatológica requerida para un alimento de roedores de laboratorio<sup>24</sup>.**

<b>ANIMAL</b>	<b>ROEDOR: RATA</b>
Proteína cruda %	12-24 %
Grasa cruda %	4-11 %
Fibra cruda %	3-6 %
Cenizas %	6-8 %
Consumo diario de alimento	10-20g
Consumo diario de agua	10-20g
Vitamina C	-

El agua se administrará diariamente en potes y será potable a libre acceso durante toda la vida del animal.

- 2.2 Cama y nido.** Cama con suficiente viruta de madera que garantice la absorción de su orina, excremento y desperdicio de agua y que favorecer su aislamiento térmico y construcción de nido.

**2.3 Agrupamiento de animales.** La rata es un roedor y estos se consideran como animales sociables.

**2.4 Manipulación e inmovilización.** Las técnicas de sujeción, manipulación e inmovilización que se realicen en el bioterio estarán acordes con los principios humanitarios internacionales aceptados.

**Transporte.** Para evitar el estrés, el transporte se realizará en cajas no transparentes, que tengan acceso de aire. Debe trasladarse en hora frescas de la mañana 10-11am o en la tarde de 6-7 pm, a una velocidad moderada 60-70km/hora.

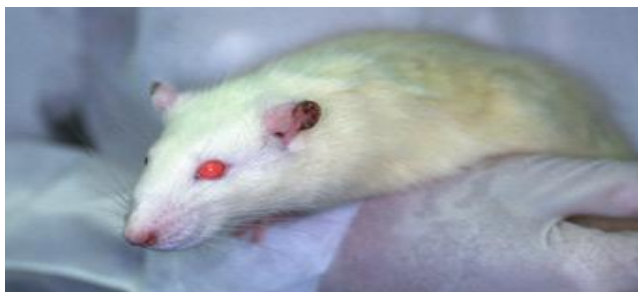
**Recepción.** En la llegada de los animales, ya estarán creadas las óptimas condiciones para su recepción.

Se revisará la certificación, luego se procederá a sexarlo, pesarlo, examinarles clínica y posteriormente se distribuirá en sus jaulas, 2 ratas por cada caja.

**Métodos de inmovilización.** Para inmovilizar a una rata se recomienda:

- Explorar previamente para ver el temperamento del animal, sobre todo en ratas jóvenes.
- Acariciar y frotar al animal antes de asirlo con más fuerza ya que esto evita agresividad.

**Técnicas para lograr la confianza de las Ues (ratas albinas) <sup>26,27</sup>.**



- Usar guantes de látex.
- No acercarse al animal por el frente.

La rata es un animal dócil y menos nervioso el macho que la hembra, para extraerlo de la jaula, se debe abrir previamente la rejilla, dejar que los animales tomen confianza y posteriormente se realiza una sujeción de todo el cuerpo, con los 5 dedos, en forma gentil.

### **Técnica de inmovilizado de las Ues (Ratas albinas)<sup>26,27</sup>.**



Una de las técnicas más recomendadas para su sujeción consiste en apoyar la nuca del animal en el borde interno del dedo índice, si se sujeta con la mano derecha, el dedo pulgar pondrá el miembro anterior izquierdo del animal frente a su hocico, el miembro anterior izquierdo quedará sujeto entre el dedo índice y medial, de manera que la cabeza quede inmóvil<sup>26,27</sup>.

La forma de sujeción en las fotografías es útil para el sexado de animales.

### **Técnicas de inmovilizado y sexado de las Ues (Ratas albinas)<sup>26,27</sup>.**

**Sexado.** Para identificar el sexo en animales jóvenes se puede hacer comparando la distancia anogenital, la cual es mayor en el macho que en la hembra.

### **3. Protocolo de cuarentena.**

La razón para establecer un protocolo de cuarentena está basada en el conocimiento científico de las enfermedades transmisibles.

La duración de la cuarentena depende de la especie con la que tratamos y las enfermedades más comunes de un determinado grupo zoológico.

En ratas que van a ser utilizadas en estudios de toxicología experimental y sus factores que intervienen en la misma se recomienda una cuarentena de duración de 7-15 días desde la llegada de los animales hasta su empleo en las diferentes investigaciones<sup>25</sup>.

Se tendrá estricto control en las ratas, para lo cual en la entrada de la caja existirá una hoja informativa que nombre la especie, número por sexo, número de cajas y número por cada caja.

El primer paso es la observación de ratas o ratones en su medio antes de ser manipulados para la inspección profunda, luego de acariciarlos se procede a la sujeción e identificación directa con el operario o cuidador.

### **Examen Físico**

Luego se realizará una inspección profunda de:

- Ojos: sin secreciones de otra índole que no sea serosa, sin estrabismo, membranas en perfecto estado.
- Oreas: limpias y sin secreciones, sin ectoparásitos, sin cicatrices.
- Nariz: fría, húmeda, sin secreciones, el aire espirado debe ser cálido, húmedo y con olor sui-generis.
- Boca: mucosa rosada, con brillo, sin lesiones, dientes limpios, lengua, paladar blando y duro integro.
- Piel y pelo: uniforme, con brillo, piel rosada sin lesiones de ninguna índole, ausencia de ectoparásitos.
- Abdomen: forma normal, no abultado, sin hernia umbilical.
- Genitales externos: sin secreciones, los testículos deben estar descendidos.
- Ano: ausencia de secreciones o heces pastosas adheridas.
- Extremidades: sin malformaciones.
- Cojinetes: intactos y limpios.
- Uñas: crecimiento normal.
- Marcha: no en zanco, no cojera.
- Conducta: amistosa.
- Reflejos: se valoran los de pedaleo, parpadeo, auditivo, pupilar, ocular, respuesta a reflejos superficiales al nivel de la piel, respuesta a los reflejos profundos, así como la respuesta a los reflejos dolorosos<sup>25</sup>.

Antes de la entrada de los animales al local de cuarentena se debe limpiar de forma profunda utilizando desinfectantes reconocidos tanto al piso como a las paredes y estantes del local, luego de secado.

**Marcaje de animales de experimentación.** Se enumerarán (Ver anexo N° 4)

**Asignación de grupos experimentales.** Según aleatorización (Ver anexo N° 6).

## **PERIODO DE PRUEBA**

El **Periodo de prueba** incluye el desarrollo del experimento en sí:

### **Procedimientos del experimento:**

1. Depilar con ayuda de unas tijeras y navajas, evitando abrasiones en la región dorsal alta. Un área de 5cm x 4cm
2. Se tomará una muestra control de sangre (Muestra basal) antes de aplicar el primer tratamiento, para obtener los niveles basales de PCR en plasma sanguíneo.
3. Aplicar EMLA crema con anestésico local (Prilocaína + lidocaína) media hora antes de la inoculación de la Carragenina.
4. Aplicar 0,2 ml de Carragenina 2% en una jeringa de tuberculina 1cc en la región depilada vía Dérmica<sup>28</sup>.
5. Aplicar Gel Plantago Major(Llantén)20%, Indometacina 1% y gel sin principio activo a los respectivos grupos experimentales inmediatamente después.
6. Ocluir con gasa con sus respectivos tratamientos, luego los demás tratamientos se aplicarán cada 8 horas.
7. Pasadas 8, 12 y 24 horas y después cada 24 h se tomará una muestra para monitorizar los valores de PCR en sangre en los tres grupos experimentales.

Las Ues serán sometidas a las mismas condiciones técnicas en la toma de muestra.



**ANEXO N° 2: Límite de volúmenes y periodos de recuperación en animales de laboratorio<sup>23</sup>.**

<b>Limit volumes and recovery periods.</b>			
<b>Single sampling (e.g. toxicity study)</b>		<b>Multiple sampling (e.g. toxicokinetic study)</b>	
% Circulatory blood volumen removed	Approximate recovery period	% Circulatory blood volumen removed in 24 h	Approximate recovery period
7,5 %	1 week	7,5 %	1 week
10 %	2 weeks	10-15%	2 weeks
20%	4 weeks	20%	3 weeks

**ANEXO N° 3: Volúmenes totales de sangre y volúmenes máximos de muestras de sangre recomendadas por peso de cada especie<sup>23</sup>.**

<b>Table total blood volumes and recommended maximum blood sample volumes for species of given body weights.</b>					
<b>Species (weights)</b>	<b>Blood volumen (ml)</b>	<b>7,5 % (ml)</b>	<b>10% (ml)</b>	<b>15 % (ml)</b>	<b>20 % (ml)</b>
Mouse (25g)	1,8	0,1	0,2	0,3	0,4
Rat (250g)	16	1,2	1,6	2,4	3,2
Rabbit (4kg)	224	17	22	34	45
Dog (10kg)	850	64	85	127	170
Maque (Rhesus) (5kg)	280	21	28	42	56
Macaque (Cynomolgus) (5kg)	325	24	32	49	65
Marmoset (350g)	25	2,0	2,5	3,5	5
Minipig (15kg)	975	73	98	146	195

#### **ANEXO N° 4: Elaboración del Gel Plantago Major (LLANTÉN) 20%**

Para la elaboración del gel se contará con la asesoría de un químico farmacéutico con experiencia en la materia.

##### **4.1. RECOLECCION DEL MATERIAL VEGETAL**

- Se usaron hojas de *Plantago major* "llantén" que estuvieron en la etapa de floración, se recolectaron al azar 1 kg de hojas.
- La muestra botánica se trasladó al Laboratorio de Botánica de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo para su respectiva identificación.
- Posteriormente se seleccionaron las hojas y se lavaron con abundante agua destilada esterilizada, que luego fueron utilizadas para la preparación del extracto acuoso.
- Las hojas de *Plantago major* "llantén" se dejaron secar a temperatura ambiente bajo sombra por una semana y luego se deshidrataron en horno a temperatura de 40°C, por 72 horas; una vez secas las hojas se procedió a triturar lo que se realizó manualmente.
- La muestra triturada se colocó en un recipiente grande de vidrio.

##### **4.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE PLANTAGO MAJOR AL 20% EN BASE ALCOHÓLICA**

1. Las tinturas se obtienen dejando en contacto la planta medicinal con el alcohol etílico durante 8 días, lo cual permite extraer una mayor concentración de los principios activos o sustancias medicinales de la planta procesada.

##### **Material:**

- Planta seca molida.
- Alcohol etílico de alta pureza (70° a 96°)
- Agua destilada.
- Papel filtro rápido o ultra rápido
- Embudo.
- Frascos de color ámbar.
- Frascos goteros ámbar.
- Gasas

El rango de concentración de las tinturas es de 20 % (veinte por ciento), es decir:

Por cada 20 gramos de planta seca se necesita  $\xrightarrow{100 \text{ ml. de Alcohol etílico.}}$

Para preparar 2000 ml. de tintura al 20%:

- 20 gramos de planta seca  $\xrightarrow{\hspace{2cm}}$  100 ml. de Alcohol etílico.
- X gramos de planta seca  $\xrightarrow{\hspace{2cm}}$  2000 ml. de Alcohol etílico.

Se calcula:  $X = 20 \text{ g} \times 2000 \text{ ml.} / 100 \text{ ml.} = 400.00 \text{ g. de planta seca}$

Es decir:

Se necesita 400 gramos de planta seca para preparar 2000 ml. de tintura.

### **Procedimiento para preparar una Tintura de manera adecuada:**

1. Pesar 400 gr. de la planta seca molida seleccionada, estabilizada y homogeneizada e introducirla en un envase ámbar adecuado de amplia capacidad. Es recomendable que el envase tenga boca ancha para introducirla fácilmente la planta y luego poderla retirar.
2. Agregar 2 litros de alcohol de grado alcohólico X° (este grado alcohólico se define de acuerdo a la planta que se va a utilizar) y tapar bien.
3. Agitar vigorosamente hasta humedecer toda la planta. Dejar escapar los vapores que se forman, abriendo ligeramente sin llegar a destapar y volver a cerrar bien.
4. Colocar el etiquetado siguiendo las normas de buenas prácticas de manufactura.
5. Dejar en maceración durante 8 días en un lugar fresco y oscuro. Almacenar en un lugar seco. Cada día agitar vigorosamente durante 5 minutos sin abrir.
6. Después de 8 días filtrar. La filtración debe hacerse en un lugar con poca luz y sin corrientes de aire para evitar pérdida por evaporación.
7. Si es necesario con la ayuda de una gasa exprimir el residuo de las plantas para no perder tintura y luego filtrarlo. El filtrado debe ser límpido y traslucido. Si fuera necesario se debe volver a filtrar.
8. El envasado debe hacerse rápido, con poca luz y sin corrientes de aire. Llenar en frascos goteros de 30 o 60 ml. hasta el cuello.
9. El etiquetado debe seguir las buenas prácticas de manufactura.
10. Almacenar en lugar fresco y seco.

#### 4.2. PROTOCOLO DE ELABORACIÓN DE GELES.

<b>Redactado por:</b>
<b>Q.F. RUDY ALEXANDER VENTURA TELLO</b>

#### ELABORACIÓN DE GELES

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo el personal (profesional, técnico y/o auxiliar) que proceda a la elaboración de geles.

- **Gel:** preparación semisólida formada por líquidos gelificados con la ayuda de agentes gelificantes apropiados. Podemos diferenciar:

##### **Geles lipófilos**

Los geles lipófilos (oleogeles) son preparaciones cuyas bases están constituidas habitualmente por parafina líquida con polietileno o por aceites grasos gelificados con sílice coloidal o por jabones de aluminio o zinc.

##### **Geles hidrófilos**

Los geles hidrófilos (hidrogeles) son preparaciones cuyas bases generalmente son agua, glicerol y propilenglicol gelificado con la ayuda de agentes gelificantes apropiados tales como almidón, derivados de la celulosa, carbómeros y silicatos de magnesio y aluminio.

#### **Fórmula patrón**

En general se ajusta a:

Principio activo..... X % (Extracto de Plantago mayor 20 %)

Excipientes:

Gelificante(s) ..... X% (Sepigel-305 –Derivado de la Celulosa 3%)

Regulador de pH (si procede)..... c.s.

Diluyente..... (Agua destilada) c.s.p.

#### **Material y equipo.**

- Agitador mecánico con/sin calefacción o manual.
- Vasos de precipitados u otros recipientes adecuados.

**Entorno.**

Humedad relativa:  $\leq 60\%$

Temperatura:  $25 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$

Excepto los casos en que las especificaciones de la formulación requieran otras condiciones.

**Método patrón.**

1. Pesar todos los componentes.
2. Dispersar el gelificante en parte del diluyente por toda la superficie, evitando la formación de grumos.
3. Dejar reposar el tiempo suficiente hasta la total imbibición del diluyente.
4. Agitar evitando la incorporación de aire, hasta obtener un gel uniforme.
5. Incorporación del principio activo:
  - Siempre que sea posible se incorporará disuelto en el diluyente antes de elaborar el gel.
  - Si no es así, una vez formado el gel, incorporar el resto de diluyente con los principios activos solubles.
  - Si son insolubles en el diluyente, disolverlos o dispersarlos en el mínimo volumen posible de un solvente con la polaridad adecuada.
6. En caso de que sea necesario para la gelificación, agregar la sustancia reguladora del pH si procede, ajustando al pH deseado y controlándolo según procedimiento de medición de pH.
7. La velocidad, tiempo de agitación, temperatura se especificarán en cada formulación en concreto.
8. Proceder a la limpieza del material y equipo según se especifique en los procedimientos de limpieza correspondientes.

**Acondicionamiento.**

Proceder al acondicionamiento del gel, según las especificaciones particulares de cada formulación.

El tipo de envase utilizado debe ser adecuado y compatible con el gel que contiene.

**Controles.**

- Fórmula magistral:

- Evaluación de los caracteres organolépticos.
- Fórmula magistral tipificada y preparados oficinales:
  - Evaluación de los caracteres organolépticos.
  - Verificación del peso.
- Si se elaboran lotes, además se realizarán los siguientes:
  - Determinación de extensibilidad.
  - Control de pH.
  - Control microbiológico.

#### **4.4 TAXONOMÍA:**

- Familia: Plantaginaceae.
- Nombre científico: *Plantago major* L.
- Nombres comunes: Llantai, Llantén macho; Llantén mayor, Tanchagem (portugués); Yantín (shipibo-conibo).

#### **4.5 DATOS AMBIENTALES:**

- Clima: Abarca una gama de condiciones climáticas, no aceptando temperaturas bajo cero.
  - Suelo: Areno-arcilloso, rico en materia orgánica, no sujeto a humedad excesiva.
  - Biotopo de poblaciones Naturales: Habita en terrenos no inundables, a campo abierto o semisombreado, con moderada humedad, tolerante a la falta de agua. No soporta inundaciones.
  - Cultivo: Época de siembra: Durante todo el año en la selva peruana.
- Espaciamiento: El espaciamiento de siembra recomendado es de 0,30 m x 0,20 m y 0.30 m x 0,30 m.

Labores de cultivo: Deshierbos frecuentes, con abono orgánico al momento de la siembra.

#### **4.6. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:**

Nativa de Eurasia y distribuida en zonas tropicales y subtropicales del mundo. En el Perú se encuentra tanto en los departamentos de la costa, como en los de sierra y selva.

**4.7. DESCRIPCIÓN:** Hierba siempre verde de tallo grueso y corto, de 10 - 50 cm de altura total. Hojas dispuestas en rosetas, de pedúnculo largo, aovadas, de 5 - 20 cm de largo por 4 - 15 cm de ancho, con 3 – 5 - 7 nervios gruesos, generalmente lisas.

Flores pequeñas reunidas en espigas densas, verde-amarillentas, de 4 - 15 cm de largo. Fruto en cápsula ovada, con numerosas semillas negras, rugosas y brillantes, de aprox. 1 mm de largo.

**4.8. FARMACODINAMIA:** El llantén es una de las plantas medicinales más utilizadas en el mundo. En la medicina popular de nuestro país las hojas de esta planta son usadas como antiséptico, astringente, desinflamante, cicatrizante, vulnerario, depurativo; en forma externa, en el tratamiento de úlceras varicosas, llagas, pústulas, hemorroides, vaginitis, flujo blanco; por vía oral como expectorante y anticatarral; como emoliente y cicatrizante de las mucosas del aparato digestivo (gastritis, úlcera, diarrea) y en afecciones hepáticas y de la vejiga. Se emplea en infusión, decocción, o simplemente el jugo de las hojas recién exprimido para su aplicación en heridas; en este último caso también se acostumbra a utilizar las hojas machacadas a modo de compresas. Las semillas de llantén se usan como laxante suave. Últimamente se le emplea también como anticanceroso, junto con matico y limpiaplata.

**4.9. PRESENTACIÓN COMERCIAL:** hay llantén seco o extracto fluido, recomendados como analgésicos, emolientes, cicatrizantes y vulnerarios; asociado con manzanilla y matico está indicado como antiespasmódico y antiulceroso



*Plantago major* L. en estado natural



Secado de la planta de *Plantago major* L.



Planta de *Plantago major* L. Seca.



Planta secas para la trituración



Planta de *Plantago major* Triturado



Materiales para la preparación del extracto y planta triturada





Preparación del extracto alcohólico de *Plantago major* 20%



Filtración del extracto alcohólico de *Plantago major*



Preparación del extracto alcohólico de *Plantago major* al 20%



Extracto de *Plantago major* al 20% en base alcohólica

## ANEXO N° 5: Prueba turbidimétrica de Proteína C Reactiva Cuantitativa: PCR Turbilátex.



CRP-TURBIL

PCR-turbilátex

Turbidimetría Látex

### Determinación cuantitativa de Proteína C-Reactiva (PCR)

#### IVD

Conservar a 2-8°C.

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

PCR-Turbilátex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de proteína C-reactiva (PCR) en suero o plasma humano.

Las partículas de látex cubiertas con anticuerpos anti-PCR humana, son aglutinadas por PCR presente en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de PCR de la muestra, y por comparación con un calibrador de PCR de concentración conocida se puede determinar el contenido de PCR en la muestra ensayada.

#### SIGNIFICADO CLÍNICO

La Proteína C-reactiva es una proteína de fase aguda, presente en el suero de pacientes sanos, la cual puede incrementarse significativamente en la mayoría de procesos infecciosos bacterianos y virales, tejidos dañados, inflamación y neoplasias malignas. El incremento de concentración de esta proteína se produce después de unas horas de desarrollarse la inflamación pudiendo alcanzar niveles de 300 mg/L en 12-24 horas.

#### EACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, pH 8.2. Conservante.
Látex (R2)	Partículas de látex cubiertas de IgG de cabra anti-PCR humana, pH, 7.3. Conservante.
CRP-CAL	Calibrador. La concentración de PCR viene indicada en la etiqueta del vial.
Opcional	Ref: 1102114 Suero Control ASO/PCR/FR Nivel L Ref: 1102115 Suero Control ASO/PCR/FR Nivel H

#### PRECAUCIONES

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

#### CALIBRACIÓN

Usar el Calibrador PCR Referencia 1107002.

La sensibilidad del ensayo y el valor de concentración del Calibrador están estandarizados frente al Material de Referencia ERM-DA 472/IFCC.

La calibración en el SPINLAB 180 es estable durante 1 mes.

Recalibrar cuando los resultados del control están fuera de especificaciones, cuando se usa diferente lote de reactivo y cuando se ajusta el instrumento.

#### PREPARACIÓN

**Calibrador de PCR:** Reconstituir (→) el liofilizado con 1,0 mL de agua destilada. Mezclar con suavidad y dejar 10 minutos en reposo antes de usarlo.

#### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:** Presencia de partículas y turbidez.

**Calibrador reconstituido:** Estable 1 mes a 2-8°C ó 3 meses a -20°C.

La congelación de los reactivos de Látex y Diluyente altera irreversiblemente la funcionalidad de los mismos.

#### MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatizable a 37°C para lecturas a 540 nm.

#### MUESTRAS

Suero fresco. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de usar.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

#### PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: 540 nm (530 – 550)
  - Temperatura: 37°C
  - Paso de luz de la cubeta: 1 cm
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

#### 4. Pipetear en una cubeta:

Diluyente (R1)	800 µL
Látex (R2)	200 µL
Calibrador o muestra	50 µL

5. Mezclar y leer la absorbancia frente al blanco inmediatamente ( $A_0$ ) y a los 2 minutos ( $A_2$ ) de efectuada la mezcla.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

#### CÁLCULOS

$$\frac{(A_2 - A_0)_{\text{muestra}}}{(A_2 - A_0)_{\text{Calibrador}}} \times \text{Concentración del Calibrador} = \text{mg/L PCR}$$

#### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Debe usarse el control de SPINREACT ASO/PCR/FR nivel L (Ref: 1102114) y nivel H (Ref: 1102115). Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

#### VALORES DE REFERENCIA

Valores normales hasta 6 mg/L.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. **Límite de linealidad:** hasta 150 mg/L, en las condiciones descritas de ensayo. Muestras con concentraciones superiores deben diluirse 1/5 en NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. La linealidad puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado, así como de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.
2. **Límite de detección:** Valores por debajo de 2 mg/L dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 400 mg/L.
4. **Sensibilidad:**  $\Delta 4,2 \text{ mA/mg/L}$ .
5. **Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres concentraciones diferentes de PCR en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	9,2 mg/L	16,8 mg/L	57,97 mg/L
Total	7,3%	6,9%	5,9%
Within Run	2,8%	3,1%	2,9%
Between Run	6,1%	4,7%	3,9%
Between Day	3,0%	4,0%	3,4%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método (x) de características similares. 50 muestras de diferentes concentraciones de PCR fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión ( $r^2$ ) fue de 0,99 y la ecuación de la recta de regresión  $y = 1,101x + 2,518$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

#### INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), lípidos (10 g/L) y factores reumatoides (300 UI/mL) no interfieren. La hemoglobina ( $\geq 5 \text{ g/L}$ ), interfiere. Otras sustancias pueden interferir.

#### NOTAS

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 196-201.
2. Chetana Vaishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 – 144.
3. Yoshitsugu Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 – 27.
4. Karl Pulki et al. Sacand J Clin Lab Invest 1986; 46: 606 – 607.
5. Werner Müller et al. Journal of Immunological Methods 1985; 80: 77 – 90.
6. Shogo Otsuji et al. Clin Chem 1982; 28/10: 2121 – 2124.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

#### PRESENTACIÓN

Ref.: 1107101	R1. Diluyente: 1 x 40 mL R2. Látex :1 x 10 mL CRP-CAL:1 x 1 mL
Ref.: 1107101L	R1. Diluyente: 1 x 200 mL R2. Látex :1 x 50 mL CRP-CAL:1 x 1 mL



**ANEXO N° 6: Resultados objetivos post evaluación y medida de PCR cuantitativo en el suero sanguíneo de las Ues**

		0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	96h
PLANTAGO MAJOR 20%	1	1.23	6.3	2.18	2.1	1.43	1.38	1.17	2.33
	2	2	2.5	1.53	1.5	2.26	2.18	1.93	1.76
	3	8.3	9.1	3.3	6.58	6.58	4.55	1.99	4.45
	4	2.15	3.5	1.88	1.73	2.11	2.08	1.43	1.28
	5	1.74	1.22	1.26	2.53	3.17	3.12	1.6	2.27
	6	9.22	10	2.8	4.27	3.5	8.23	1.18	6.25
	7	1.18	4.8	3.3	2.9	3.6	3.3	2.11	2.77
	8	1.26	1.3	2	1.9	1.36	1.3	1.22	1.1
PROMEDIO		3.385	4.84	2.28125	2.93875	3.00125	3.2675	1.57875	2.77625
GEL SIN ACTIVO	9	3.11	4.56	2.51	4.5	1.75	5.5	1.18	2.54
	10	2.87	8.21	3.06	7.42	2.93	5.61	4.34	2.38
	11	2	1.08	1.87	1.02	1.26	3.83	1.55	1.77
	12	1.43	5.1	1.22	2.26	1.13	1.11	2.28	5.9
	13	9	10.11	8.25	7.25	7.54	6.23	6.28	6.27
	14	3.1	8.9	2.28	7.68	1.83	7.61	6.93	3.43
	15	4.25	3.23	2.17	3.19	1.34	2.54	1.17	4.73
	16	8.23	9.67	6.58	6.5	7.23	6.69	7.18	6.93
PROMEDIO		4.24875	6.3575	3.4925	4.9775	3.12625	4.89	3.86375	4.24375
INDOMETACINA 1%	17	1.48	6.8	1.24	2.48	2.8	2.06	1.33	2.46
	18	2.61	2.7	1.33	1.3	1.15	1.15	1.48	1.31
	19	4.43	9.38	3.17	2.99	2.66	2.62	2.15	2.07
	20	2.66	1.77	2.25	2.2	1.83	1.25	1.32	1.26
	21	1.17	2	3.16	3.15	3.44	3.45	2.56	2.15
	22	1.58	8.6	2.87	2.71	2.53	1.58	3.68	1.7
	23	2.65	1.48	1.42	1.22	2.27	2.34	1.76	1.71
	24	1.84	7.9	2.55	2.5	1.82	1.9	1.57	1.58
PROMEDIO		2.3025	5.07875	2.24875	2.31875	2.3125	2.04375	1.98125	1.78

# **ANEXO N° 7: Evaluación clínica y control de administración de sustancias tópicas en ratas albinas**

EVALUACIÓN CLÍNICA Y CONTROL DE ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS TÓPICAS A LAS 0h, 12h, 24h, 36h, 48h, 60h, 72h y 96h

Marcar con un aspa (x) en cada evaluación según corresponda:

Ue: Recibió la sustancia tópica correspondiente según su grupo.

C: Hay variación local de la temperatura(Calor)

R: Hay cambios de color locales (Rubor)

E: Hay aumento de volumen local (Edema)

TIEMPO TRANSCURRIDO		0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	96h
<i>Plantago major gel 20%</i>	Ue1								
	C				x	x	x		
	R				x	x	x	x	
	E		x	x	x	x			
	Ue2								
	C				x	x	x	x	
	R			x	x				
	E		x	x	x	x	x	x	X
	Ue3								
	C			x		x	x		
	R			x	x	x	x	x	
	E		x	x					
	Ue4								
	C			x	x	x	x		
	R			x	x	x			
	E		x	x	x	x	x	x	
	Ue5								
	C			x	x	x	x	x	
	R								
	E		x	X	x	x	x	x	x
	Ue6								
	C			X	x	x			
	R			X	x	x	x	x	
	E		x	X					
	Ue7								
	C			X	x	x	x	x	x
	R				x	x	x	x	
	E					x			
	Ue8								
	C				x	x			
	R			X	x	x	x	x	
	E		x	X	x	x	x	x	x

TIEMPO TRANSCURRIDO		0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	96h
Control (Gel sin principio activo)	Ue9								
	C				x	x	X	x	x
	R			x	x	x	X	x	x
	E		x	x	x	x	X	x	x
	Ue10								
	C	x	x	x	x	x			
	R			x	x	x	X	x	x
	E		x	x	x	x	X	x	x
	Ue11								
	C				x	x	X	x	x
	R			x	x	x	X	x	x
	E		x	x	x	x	X	x	x
	Ue12								
	C			x	x			x	x
	R		x	x	x	x	X	x	x
	E		x	x	x	x	X	x	x
	Ue13								
	C			x	x	x	X	x	x
	R		x	x	x	x	X	x	x
	E		x	x	x	x	X	x	x
	Ue14								
	C			x	x	x	X	x	x
	R			x	x	x	X	x	x
	E		x	x	x	x			
	Ue15								
	C			x	x	x	X		
	R				x	x	X	x	x
	E		x	x	x	x	X	x	x
	Ue16								
	C				x	x	X	x	x
	R		x	x	x	x	X	x	x
	E		X	x	x	x			

TIEMPO TRANSCURRIDO		0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	96h
<i>Indometacina espray 1%</i>	Ue17								
	C			x	x	x			
	R				x				
	E		x	x	x	x	x		
	Ue18								
	C			x	x	x	x	x	
	R			x	x				
	E		x	x					
	Ue19								
	C			x	x	x			
	R			x	x				
	E		x	x	x	x	x		
	Ue20								
	C				x				
	R			x	x				
	E		x	x	x	x	x	x	
	Ue21								
	C			x	x	x			
	R					x			
	E		x	x	x	x	x		
	Ue22								
	C		x	x	x				
	R			x	x	x	x		
	E				x				
	Ue23								
	C			x	x	x	x		
	R				x	x			
	E		x	x	x	x	x	x	x
	Ue24								
	C								
	R			x	x	x	x		
	E		x	x	x	x	x	x	x

**VALORES Y PROMEDIOS ASIGNADOS A LA OBSERVACIÓN DE SIGNOS VISIBLES  
POST TRATAMIENTO (Placebo, *Pantago major*20%, Indometacina1%)**

Tiempo transcurrido	Ues	oh	12h	24h	36h	48h	60h	72h	96h
PLANTAGO MAJOR 20%	1	0	3.33	3.33	9.99	9.99	6.66	3.33	0
	2	0	3.33	6.66	9.99	6.66	6.66	6.66	3.33
	3	0	3.33	9.99	6.66	6.66	6.66	3.33	0
	4	0	3.33	9.99	9.99	9.99	6.66	3.33	0
	5	0	3.33	6.66	6.66	6.66	6.66	6.66	3.33
	6	0	3.33	9.99	6.66	6.66	3.33	3.33	0
	7	0	3.33	3.33	6.66	9.99	6.66	6.66	3.33
	8	0	3.33	6.66	9.99	9.99	6.66	6.66	3.33
PROMEDIO		0	3.33	7.076	8.325	8.325	6.24	5	1.665
GEL SIN ACTIVO	9	0	3.33	6.66	9.99	9.99	9.99	9.99	9.99
	10	3.33	6.66	9.99	9.99	9.99	9.99	6.66	6.66
	11	0	3.33	6.66	9.99	9.99	9.99	9.99	9.99
	12	0	6.66	9.99	9.99	9.99	9.99	9.99	9.99
	13	0	6.66	9.99	9.99	9.99	9.99	9.99	9.99
	14	0	3.33	9.99	9.99	9.99	6.66	6.66	6.66
	15	0	3.33	6.66	9.99	9.99	9.99	6.66	6.66
	16	0	6.66	6.66	9.99	9.99	6.66	6.66	6.66
PROMEDIO		0.416	4.995	8.325	9.99	9.99	9.16	8.33	8.325
INDOMETACINA 1%	17	0	3.33	6.66	9.99	6.66	3.33	0	0
	18	0	3.33	9.99	6.66	3.33	3.33	3.33	0
	19	0	3.33	9.99	9.99	6.66	3.33	0	0
	20	0	3.33	6.66	9.99	3.33	3.33	3.33	0
	21	0	3.33	6.66	6.66	9.99	3.33	0	0
	22	0	3.33	6.66	9.99	3.33	3.33	0	0
	23	0	3.33	6.66	9.99	9.99	6.66	3.33	3.33
	24	0	3.33	6.66	9.99	6.66	6.66	3.33	3.33
PROMEDIO		0	3.33	7.493	9.158	6.244	4.16	1.67	0.833



**ANEXO N° 8: Niveles de Proteína C Reactiva obtenida desde las 0 horas hasta las 96 horas; con su respectivo Análisis de Varianza (ANAVA) y Prueba de Duncan**

**Muestra basal tomada a las 0 horas:**

N° Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	3.11	1.23	1.48
2	2.87	2	2.61
3	2	8.3	4.43
4	1.43	2.15	2.66
5	9	1.74	1.17
6	3.1	9.22	1.58
7	4.25	1.18	2.65
8	8.23	1.26	1.84
Promedio	4.24875	3.385	2.3025

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago major</i>	8	27.08	3.385	11.19651429
Placebo	8	33.99	4.24875	7.992041071
Indometacina	8	18.42	2.3025	1.080621429

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	15.21535833	2	7.607679167	1.125997259	0.34313923	3.466800112
Dentro de los grupos	141.8842375	21	6.756392262			
Total	157.0995958	23				

**Muestra tomada a las 12 horas post tratamiento:**

Nº Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	4.56	6.3	6.8
2	8.21	2.5	2.7
3	1.08	9.1	9.38
4	5.1	3.5	1.77
5	10.11	1.22	2
6	8.9	10	8.6
7	3.23	4.8	1.48
8	9.67	1.3	7.9
Promedio	6.3575	4.84	5.07875

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago major</i>	8	38.72	4.84	11.4019429
Placebo	8	50.86	6.3575	11.0565071
Indometacina	8	40.63	5.07875	11.5511554

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	10.65335833	2	5.326679167	0.46986836	0.631499153	5.780415688
Dentro de los grupos	238.0672375	21	11.33653512			
Total	248.7205958	23				

**Muestra tomada a las 24 horas post tratamiento:**

N° Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	2.51	2.18	1.24
2	3.06	1.53	1.33
3	1.87	3.3	3.17
4	1.22	1.88	2.25
5	8.25	1.26	3.16
6	2.28	2.8	2.87
7	2.17	3.3	1.42
8	6.58	2	2.55
Promedio	3.4925	2.28125	2.24875

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago major</i>	8	18.25	2.28125	0.60035536
Placebo	8	27.94	3.4925	6.33353571
Indometacina	8	17.99	2.24875	0.67204107

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	8.040258333	2	4.020129167	1.58565542	0.228375999	3.466800112
Dentro de los grupos	53.241525	21	2.535310714			
Total	61.28178333	23				

**Muestra tomada a las 36 horas post tratamiento:**

N° Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	4.5	2.1	2.48
2	7.42	1.5	1.3
3	1.02	6.58	2.99
4	2.26	1.73	2.2
5	7.25	2.53	3.15
6	7.68	4.27	2.71
7	3.19	2.9	1.22
8	6.5	1.9	2.5
Promedio	4.9775	2.93875	2.31875

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago major</i>	8	23.51	2.93875	2.93044107
Placebo	8	39.82	4.9775	6.74590714
Indometacina	8	18.55	2.31875	0.51609821

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	30.95960833	2	15.47980417	4.5562577	0.02272264	3.466800112
Dentro de los grupos	71.347125	21	3.397482143			
Total	102.3067333	23				

**Muestra tomada a las 48 horas post tratamiento:**

N° Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( Plantago mayor)	T3 (Indometacina)
1	1.75	1.43	2.8
2	2.93	2.26	1.15
3	1.26	6.58	2.66
4	1.13	2.11	1.83
5	7.54	3.17	3.44
6	1.83	3.5	2.53
7	1.34	3.6	2.27
8	7.23	1.36	1.82
Promedio	3.12625	3.00125	2.3125

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago mayor</i>	8	24.01	3.00125	2.84992679
Placebo	8	25.01	3.12625	7.22762679
Indometacina	8	18.5	2.3125	0.50079286

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	3.072508333	2	1.536254167	0.43567892	0.652540185	3.466800112
Dentro de los grupos	74.048425	21	3.526115476			
Total	77.12093333	23				

**Muestra tomada a las 60 horas post tratamiento:**

N° Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	5.5	1.38	2.06
2	5.61	2.18	1.15
3	3.83	4.55	2.62
4	1.11	2.08	1.25
5	6.23	3.12	3.45
6	7.61	8.23	1.58
7	2.54	3.3	2.34
8	6.69	1.3	1.9
Promedio	4.89	3.2675	2.04375

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago major</i>	8	26.14	3.2675	5.18865
Placebo	8	39.12	4.89	4.89414286
Indometacina	8	16.35	2.04375	0.5803125

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	32.61655833	2	16.30827917	4.588235	0.022222039	3.466800112
Dentro de los grupos	74.6417375	21	3.554368452			
Total	107.2582958	23				

**Muestra tomada a las 72h horas post tratamiento:**

N° Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	1.18	1.17	1.33
2	4.34	1.93	1.48
3	1.55	1.99	2.15
4	2.28	1.43	1.32
5	6.28	1.6	2.56
6	6.93	1.18	3.68
7	1.17	2.11	1.76
8	7.18	1.22	1.57
Promedio	3.86375	1.57875	1.98125

Análisis de varianza de un factor

**RESUMEN**

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago major</i>	8	12.63	1.57875	0.15029821
Placebo	8	30.91	3.86375	6.96928393
Indometacina	8	15.85	1.98125	0.65426964

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	23.80543333	2	11.90271667	4.593366453	0.022142845	3.466800112
Dentro de los grupos	54.4169625	21	2.591283929			
Total	78.22239583	23				

**Muestra tomada a las 96h horas post tratamiento:**

N° Ues	T1 ( Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	2.54	2.33	2.46
2	2.38	1.76	1.31
3	1.77	4.45	2.07
4	5.9	1.28	1.26
5	6.27	2.27	2.15
6	3.43	6.25	1.7
7	4.73	2.77	1.71
8	6.93	1.1	1.58
Promedio	4.24375	2.77625	1.78

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>Plantago major</i>	8	22.21	2.77625	3.05788393
Placebo	8	33.95	4.24375	3.92274107
Indometacina	8	14.24	1.78	0.17514286

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	24.57635833	2	12.28817917	5.15172351	0.01512115	3.466800112
Dentro de los grupos	50.090375	21	2.385255952			
Total	74.66673333	23				



**ANEXO N° 9: Niveles de la evaluación clínica obtenida desde las 0 horas hasta las 96 horas; con su respectivo Análisis de Varianza (ANAVA) y Prueba de Duncan**

**Evaluación clínica a las 0 horas**

N° Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	0	0	0
2	3.33	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
Promedio	0.41625	0	0

Análisis de varianza de un factor

**RESUMEN**

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	3.33	0.41625	1.386113
<i>Plantago major</i>	8	0	0	0
Indometacina	8	0	0	0

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.924075	2	0.4620375	1	0.38473378	3.466800112
Dentro de los grupos	9.7027875	21	0.4620375			
Total	10.6268625	23				

### Evaluación clínica a las 12 horas

Nº Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	3.33	3.33	3.33
2	6.66	3.33	3.33
3	3.33	3.33	3.33
4	6.66	3.33	3.33
5	6.66	3.33	3.33
6	3.33	3.33	3.33
7	3.33	3.33	3.33
8	6.66	3.33	3.33
Promedio	4.995	3.33	3.33

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	39.96	4.995	3.168257
<i>Plantago major</i>	8	26.64	3.33	9.02E-31
Indometacina	8	26.64	3.33	9.02E-31

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	14.7852	2	7.3926	7	0.00468369	3.466800112
Dentro de los grupos	22.1778	21	1.056085714			
Total	36.963	23				

### Evaluación clínica a las 24 horas

Nº Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	6.66	3.33	6.66
2	9.99	6.66	9.99
3	6.66	9.99	9.99
4	9.99	9.99	6.66
5	9.99	6.66	6.66
6	9.99	9.99	6.66
7	6.66	3.33	6.66
8	6.66	6.66	6.66
Promedio	8.325	7.07625	7.4925

Análisis de varianza de un factor

### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	66.6	8.325	3.168257
Plantago major	8	56.61	7.07625	7.722627
Indometacina	8	59.94	7.4925	2.376193

### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6.468525	2	3.2342625	0.731343	0.49312245	3.466800112
Dentro de los grupos	92.8695375	21	4.422358929			
Total	99.3380625	23				

### Evaluación clínica a las 36 horas

Nº Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	9.99	9.99	9.99
2	9.99	9.99	6.66
3	9.99	6.66	9.99
4	9.99	9.99	9.99
5	9.99	6.66	6.66
6	9.99	6.66	9.99
7	9.99	6.66	9.99
8	9.99	9.99	9.99
Promedio	9.99	8.325	9.1575

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	79.92	9.99	0
<i>Plantago major</i>	8	66.6	8.325	3.168257
Indometacina	8	73.26	9.1575	2.376193

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	11.0889	2	5.54445	3	0.0714468	3.466800112
Dentro de los grupos	38.81115	21	1.84815			
Total	49.90005	23				

### Evaluación clínica a las 48 horas

N° Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	9.99	9.99	6.66
2	9.99	6.66	3.33
3	9.99	6.66	6.66
4	9.99	9.99	3.33
5	9.99	6.66	9.99
6	9.99	6.66	3.33
7	9.99	9.99	9.99
8	9.99	9.99	6.66
Promedio	9.99	8.325	6.24375

Análisis de varianza de un factor

### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	79.92	9.99	0
<i>Plantago major</i>	8	66.6	8.325	3.168257
Indometacina	8	49.95	6.24375	7.722627

### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	56.368575	2	28.1842875	7.763636	0.00299104	3.466800112
Dentro de los grupos	76.2361875	21	3.630294643			
Total	132.6047625	23				

### Evaluación clínica a las 60 horas

Nº Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	9.99	6.66	3.33
2	9.99	6.66	3.33
3	9.99	6.66	3.33
4	9.99	6.66	3.33
5	9.99	6.66	3.33
6	6.66	3.33	3.33
7	9.99	6.66	6.66
8	6.66	6.66	6.66
Promedio	9.1575	6.24375	4.1625

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	73.26	9.1575	2.376193
Plantago major	8	49.95	6.24375	1.386113
Indometacina	8	33.3	4.1625	2.376193

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	100.724175	2	50.3620875	24.6129	3.1267E-06	3.466800112
Dentro de los grupos	42.9694875	21	2.046166071			
Total	143.6936625	23				

### Evaluación clínica a las 72 horas

Nº Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	9.99	3.33	0
2	6.66	6.66	3.33
3	9.99	3.33	0
4	9.99	3.33	3.33
5	9.99	6.66	0
6	6.66	3.33	0
7	6.66	6.66	3.33
8	6.66	6.66	3.33
Promedio	8.325	4.995	1.665

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	66.6	8.325	3.168257
Plantago major	8	39.96	4.995	3.168257
Indometacina	8	13.32	1.665	3.168257

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	177.4224	2	88.7112	28	1.18891E-06	3.466800112
Dentro de los grupos	66.5334	21	3.168257143			
Total	243.9558	23				

**Evaluación clínica a las 96 horas**

N° Ues	T1 (Placebo)	T2 ( <i>Plantago major</i> )	T3 (Indometacina)
1	9.99	0	0
2	6.66	3.33	0
3	9.99	0	0
4	9.99	0	0
5	9.99	3.33	0
6	6.66	0	0
7	6.66	3.33	3.33
8	6.66	3.33	3.33
Promedio	8.325	1.665	0.8325

Análisis de varianza de un factor

**RESUMEN**

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Placebo	8	66.6	8.325	3.168257
<i>Plantago major</i>	8	13.32	1.665	3.168257
Indometacina	8	6.66	0.8325	2.376193

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	269.8299	2	134.91495	46.4545	1.94733E-08	3.466800112
Dentro de los grupos	60.98895	21	2.904235714			
Total	330.81885	23				



**ANEXO N° 10: Ejecución de los tratamientos**