

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



EVALUACIÓN DEL EFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO DE *Heliopsis longipes*

Por

Ana Karen López Márquez

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Especialización en Endodoncia

Septiembre, 2022
Especialización en Endodoncia.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO DE *Heliopsis longipes*

ANA KAREN LÓPEZ MÁRQUEZ
NOMBRE COMPLETO DEL TESISISTA

Comité de Tesis

Presidente

Secretario

Vocal

Especialización en Endodoncia

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO DE *Heliopsis longipes*

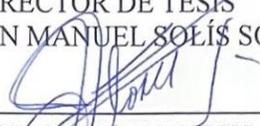


TESISTA
ANA KAREN LÓPEZ MÁRQUEZ

Comité de Tesis



DIRECTOR DE TESIS
DR. JUAN MANUEL SOLÍS SOTO



CODIRECTOR DE TESIS
DR. JORGE JAIME FLORES TREVIÑO

ASESOR METODOLÓGICO
DR. GUSTAVO ISRAEL MARTÍNEZ GONZÁLEZ

ASESOR METODOLÓGICO
DRA. ROSA ISELA SÁNCHEZ NÁJERA

ASESOR METODOLÓGICO
DRA. IDALIA RODRÍGUEZ DELGADO

ASESOR METODOLÓGICO
DR. RENE HERNÁNDEZ DELGADILLO

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios y a mi madre, por siempre confiar en mí.

Al Dr. Jorge Jaime Flores Treviño coordinador actual de mi posgrado, por darme la oportunidad de realizar mi sueño de ser especialista en el área clínica de Endodoncia.

Al Dr. Ramiro Quintanilla Licea profesor investigador del laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas U.A.N.L por apoyarme para la realización de mi extracto en conjunto con el químico Ángel David Torres Hernández.

A mi director de tesis Juan Manuel Solís Soto y al químico Jovany Emanuel Hernández Elizondo por un apoyo total durante la realización del presente trabajo.

A cada uno de los docentes que formaron parte de mi desarrollo como endodoncista.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	iv
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	12
2. HIPÓTESIS	13
3.OBJETIVOS.....	14
3.1 Objetivo general	
3.2 Objetivos particulares	
4.ANTECEDENTES	15
4.1 Anestesia en Odontología	15
4.2 Anestesia tópica	15
4.2.1 Tipos de anestesia tópica	15
4.2.1.1 Aerosoles.....	16
4.2.1.2 Soluciones.....	16
4.2.1.3 Geles o ungüentos.....	16
4.2.2 La lidocaína y benzocaína.....	16
4.3 Dolor.....	17
4.4 Fitoterapia.....	17
4.4.1 <i>Heliopsis longipes</i>	18
4.4.1.1 Afinina.....	19
4.4.1.2 Mecanismos de acción de la afinina.....	20
5.MÉTODOS.....	21
5.1Características del grupo control y del (los) grupo(s) experimental(es).....	21
5.2 Extracto de HLEE.....	21
5.3 Prueba de placa caliente.....	21
5.4 Estudios histopatológicos.....	22
5.5 Análisis estadístico.....	22
6. RESULTADOS	23
7. DISCUSIÓN.....	25
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	26

9. LITERATURA CITADA	27
RESUMEN BIOGRÁFICO.....	30
APÉNDICES	31

LISTA DE TABLAS

Tablas

Página

Tabla 1. Se muestra como todas las concentraciones del HLEE tienen capacidad analgésica, al igual que la benzocaína. Se observa como la capacidad de analgesia va de acuerdo con la concentración del HLEE.

23

Tabla 2. Se muestra como la concentración de 40 mg/Kg de peso de HLEE no muestra diferencia con la benzocaína en el poder analgésico, sin embargo, a mayores concentraciones el HLEE tiene mejor efecto.

23

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
Figura 1. Se muestra la media y desviación estandar del tiempo en segundos del control, benzocaína y diferentes concentraciones de HLEE.	23
Figura 2. Fotomicrografía al microscopio de campo claro teñido con hematoxilina y eosina y con tricómico de Masson donde se muestra la epidermis y dermis con morfología normal de la piel del ratón. Tratado con benzocaína	24
Figura 3. Fotomicrografía al microscopio de campo claro teñido con hematoxilina y eosina, y tricómico de Masson donde se muestra la epidermis y dermis con morfología normal de la piel del ratón. Tratado con HLEE de 40 mg/Kg.	24
Figura 4. Fotomicrografía al microscopio de campo claro teñido con hematoxilina y eosina, y tricómico de Masson donde se muestra la epidermis y dermis con morfología normal de la piel del ratón. Tratado con HLEE de 400 mg/Kg.	24

NOMENCLATURA

HLEE
ml
mg

Extracto de *Heliopsis longipes*
mililitros
miligramos

TESISTA: ANA KAREN LÓPEZ MÁRQUEZ
DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN MANUEL SOLÍS SOTO
CODIRECTOR DE TESIS: DR. JORGE JAIME FLORES TREVIÑO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO DE *Heliopsis longipes*

RESUMEN

- **INTRODUCCIÓN:** En la actualidad una de las opciones que tenemos para el manejo del dolor es el uso de extractos de plantas con diversas propiedades, *Heliopsis longipes*, es una planta con propiedades analgésicas, antimicrobianas y fungicidas y antiinflamatorias. **OBJETIVO:** En el presente trabajo se llevó a cabo la evaluación del efecto analgésico del extracto *Heliopsis longipes* en modelo animal. **METODOLOGÍA:** Se desarrolló un extracto a partir de las raíces de *Heliopsis longipes*, en diferentes concentraciones se comparó el efecto analgésico con la benzocaína de manera tópica mediante ensayos in vivo en modelo animal mediante la prueba de la placa caliente. Por último, se analizó la histopatología del extracto de mediante cortes histológicos. **RESULTADOS:** Existe diferencia significativa del efecto analgésico del extracto *H. longipes* (HLEE) en comparación de la anestesia tópica utilizada, el efecto analgésico de HLEE fue aumentando según la dosificación correspondiente. No se detectaron alteraciones morfológicas o signos de inflamación en las muestras histológicas teñidas con H&E y Tricrómico de Masson. **CONCLUSIONES:** El HLEE tiene efecto analgésico a nivel sistémico y no muestra alteraciones histopatológicas, por lo que es un buen candidato para su empleo en la analgesia dental.

TESISTA: ANA KAREN LÓPEZ MÁRQUEZ
DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN MANUEL SOLÍS SOTO
CODIRECTOR DE TESIS: DR. JORGE JAIME FLORES TREVIÑO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EVALUATION OF THE ANALGESIC EFFECT OF *Heliopsis longipes* EXTRACT

ABSTRACT

INTRODUCTION: Nowadays one of the options we have for pain management is the use of plant extracts with diverse properties, *Heliopsis longipes*, besides having analgesic, antimicrobial and fungicidal properties, is assigned anti-inflammatory properties. **OBJECTIVE:** In the present work, the evaluation of the analgesic effect of *Heliopsis longipes* extract in an animal model was carried out. **METHODOLOGY:** An extract was developed from the roots of *Heliopsis longipes*, in different concentrations and the analgesic effect was compared with benzocaine topically by in vivo assays in animal model using the hot plate test. Finally, the histopathology of the extract was analyzed by histological sections. **RESULTS:** There is significant difference of analgesic effect of *H. longipes* extract (HLEE) compared to topical anesthesia used, the analgesic effect of HLEE was increasing according to the corresponding dosage. No morphological alterations or signs of inflammation were detected in histological specimens stained with H&E and Masson's Trichrome. **CONCLUSIONS:** HLEE has analgesic effect at the systemic level and does not show histopathological alterations, making it a good candidate for use in dental analgesia.

1.- Introducción

En la actualidad el manejo del dolor es un tema en donde se han empleado variedad de fármacos para la lograr el control de este, sin embargo, el uso excesivo de medicamentos ha perjudicado a la salud de múltiples pacientes. *Heliopsis longipes* es una planta endémica de México que actualmente es utilizada por sus efectos analgésicos.

Actualmente contamos con investigaciones enfocadas en su efecto antinociceptivo, las cuales han utilizado modelos in vivo, mediante la prueba de placa caliente, obteniendo resultados comprometedores demostrando su efecto analgésico comparado con el diclofenaco.

Heliopsis longipes, además de tener propiedades analgésicas, antimicrobianas y fungicidas, se le asigna propiedades antiinflamatorias. En la literatura no existen suficientes estudios sobre el extracto de *Heliopsis longipes* y sus propiedades analgésicas.

En este trabajo buscamos la respuesta a la siguiente pregunta: ¿El extracto de *Heliopsis longipes* tendrá mayor efecto analgésico que las anestésicas tópicas más comunes en odontología?

Debido a que la búsqueda de medicina alternativa cada día se ha hecho más popular en la población actual, es necesario desarrollar e investigar nuevas soluciones que puedan ayudarnos a manejar el dolor de los pacientes sin que tenga daños colaterales.

Es por esto que en el presente trabajo se llevó a cabo la evaluación del efecto analgésico del extracto a partir de las raíces de *Heliopsis longipes*, se comparó el efecto analgésico del extracto de raíces de *H. longipes* (HLEE) con benzocaína de manera tópica mediante ensayos in vivo en modelo animal, mediante la prueba de la placa caliente. Por último, se analizó la histopatología del extracto en cortes teñidos con H&E y Tricrómico de Masson.

Dentro de los principales resultados obtenidos encontramos que el efecto analgésico del extracto de *Heliopsis longipes*, en la prueba de placa caliente, mismo efecto que va aumentando conforme la concentración del extracto, observando el efecto más alto en la concentración de 400 mg/kg.

De la misma forma no se observaron alteraciones sistémicas ó morfológicas, analizando cortes histológicos a nivel de la dermis y epidermis, concluyendo de esta forma, que no existe toxicidad alguna a nivel tópico del uso de HLEE.

2.- Hipótesis

El extracto de *Heliopsis longipes* tiene mayor o mismo efecto analgésico que la benzocaína de manera tópica

Objetivos

Evaluar el efecto analgésico del extracto *Heliopsis longipes* en modelo animal.

3.- Objetivos Generales

3.1.- Desarrollar un extracto a partir de las raíces de *Heliopsis longipes*.

3.2.- Comparar el efecto analgésico del extracto de *Heliopsis longipes* con Benzocaína de manera tópica mediante ensayos in vivo en modelo animal.

3.3.- Evaluar la toxicidad obtenida del extracto de *Heliopsis longipes* mediante cortes histológicos.

4. Antecedentes

4.1 Anestesia en Odontología

El término anestesia proviene del griego an y aisthesis, que significa "sin sentimiento". Esta ausencia de dolor puede entenderse como local y limitada a una determinada zona del cuerpo. Quizás ningún especialista en el campo de la medicina utilice la anestesia local tan ampliamente como un cirujano dentista, razón por la cual los muchos años de experiencia clínica y académica de muchos de ellos han demostrado cuán efectiva y segura es en la práctica de la profesión dental. Pero si no se conocen bien los efectos farmacológicos de los anestésicos locales, así como las precauciones que se deben tomar antes y después del uso de un anestésico local, toda la efectividad y seguridad que representan se convertirá en un verdadero problema para la atención del paciente. El principal uso de los anestésicos locales en odontología es el alivio del dolor durante el tratamiento dental. Utilizándolos, un cirujano dentista puede realizar procedimientos rutinarios o especializados sin causar dolor al paciente (Macouzet et al.,2008).

La anestesia local es muy importante en odontología. En todo el mundo, cada año se administran millones de inyecciones de anestésico local y, en general, se considera un procedimiento invasivo y seguro. Sin embargo, existen posibles efectos secundarios que los dentistas deben tener en cuenta (Ho et al.,2021).

4.2 Anestesia tópica

El gran miedo a las agujas debido al dolor asociado con la punción y el entumecimiento de los tejidos bucales es una barrera común para el cuidado dental de muchos pacientes. Una práctica comúnmente utilizada para prevenir este tipo de dolor es aplicar anestesia local en el área del tejido antes de la punción (Virga et al.,2007).

Los anestésicos locales alteran el umbral del dolor controlando las sensaciones de dolor bloqueando las señales transmitidas desde las fibras nerviosas sensoriales periféricas. Sin embargo, sólo son eficaces para bloquear los estímulos dolorosos en la capa superficial de la mucosa. Los anestésicos locales utilizados para la anestesia tópica deben tener una excelente permeabilidad de la mucosa para llegar fácilmente a las terminaciones nerviosas libres (Boyce et al.,2016).

4.2.1 Tipos de anestesia tópica

Los productos de anestesia tópica vienen en forma de aerosoles, soluciones, geles y ungüentos. En odontología, existe una amplia gama de indicaciones para la anestesia local y, según su finalidad, se debe seleccionar un agente específico (Kravitz et al.,2007).

4.2.1.1 Aerosoles

Los aerosoles pueden bloquear eficazmente una gran superficie, pero la exposición prolongada aumenta el riesgo de absorción en el sistema circulatorio. Se sabe que los anestésicos en aerosol se pueden utilizar mucho antes de las radiografías orales y antes de las impresiones dentales en pacientes con un reflejo de vómito excesivo (Kravitz et al.,2007).

4.2.1.2 Soluciones

Las soluciones son efectivas cuando se necesita anestesia para cubrir una gran superficie sin riesgo de aspiración (Kravitz et al.,2007).

4.2.1.3 Geles o ungüentos

Los geles o ungüentos son eficaces para aliviar el dolor causado por un corte o abrasión y también pueden aliviar el dolor en el lugar de la inyección con anestésicos locales (Kravitz et al.,2007).

Los anestésicos tópicos desarrollados recientemente tienen un efecto anestésico mejorado al combinar múltiples ingredientes o pueden usarse en tejidos periodontales. Aunque son raros, los anestésicos locales pueden provocar reacciones alérgicas o efectos secundarios como metahemoglobinemia; por lo tanto, los médicos deben realizar una historia cuidadosa y tener precaución para evitar que los pacientes sufran una sobredosis. Se recomienda que los dentistas adquieran conocimientos suficientes sobre los anestésicos locales para mejorar la calidad de la atención (Cabo et al.,2016).

4.2.2 La lidocaína y benzocaína

Disponemos de varias formulaciones para anestesia tópica, siendo la lidocaína y la benzocaína los medicamentos más utilizados. La benzocaína es un anestésico local que sólo se usa externamente. Es estructuralmente idéntica a la procaína, excepto que carece del grupo dietilamino terminal y su baja solubilidad significa que se absorbe demasiado lentamente para ser tóxica. Hay varias presentaciones para la aplicación.

Según el fabricante, el efecto máximo se consigue al cabo de unos quince minutos y dura unos 45 minutos. (Strechartz et al.,1998).

La lidocaína y la benzocaína se utilizan ampliamente debido a su baja toxicidad y potentes efectos anestésicos locales, y recientemente se han introducido en el mercado varios productos con ingredientes mixtos (Covino et al.,1986).

La benzocaína es mejor conocida por su papel como agente anestésico y se usa ampliamente para tratar aftas, dolores de oído y complicaciones dentales. Junto con la lidocaína y otros anestésicos locales, la benzocaína ha sido reconocida como agente anestésico en procedimientos quirúrgicos y también como bloqueador de los canales de Na^+ (Khair et al.,2020).

La lidocaína es un agente anestésico local comúnmente utilizado para la anestesia local y tópica, pero también tiene usos antiarrítmicos y analgésicos y puede usarse como complemento de la intubación traqueal. Es una amina terciaria y es un agente antiarrítmico de clase Ib en la clasificación de Vaughan-Williams (Beecham et al., 2021).

4.3 Dolor

Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), el dolor se puede definir como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con una lesión tisular (destrucción celular con liberación de sustancias bioquímicas). real o posible, o que se “describe como tal” y por tanto involucra procesos sensoriales y emocionales.

La función de la sensación de dolor es proteger al organismo de estímulos nocivos. Cuando la lesión tisular es inevitable, se producen una serie de cambios en el sistema nervioso (central y periférico) responsable de la percepción del dolor (Crusiani et al., 2006).

El dolor nociceptivo implica la activación de receptores llamados nociceptores mediante estímulos térmicos, mecánicos o bioquímicos. Estos receptores se encuentran en el tejido de la piel, las articulaciones, los músculos y en las paredes de los intestinos, los cuales detectan estímulos dolorosos y los convierten en impulsos eléctricos (McMahon, 2007).

Hay tres tipos de receptores nociceptivos:

- Mecanorreceptores: estimulados por la presión.
- Termorreceptores: responden a temperaturas extremas.
- Receptores polimodales: sensibles a estímulos nociceptivos, mecánicos, térmicos y químicos.

La función de alerta de dolor desencadena respuestas protectoras (retirada motora reflexiva y respuestas conductuales) y tiene como objetivo mantener el daño tisular al mínimo. La capacidad de experimentar dolor tiene una función protectora. Cuando el daño tisular (degradación celular con liberación de sustancias bioquímicas) es inevitable, se produce una cascada de cambios en el sistema nervioso central y periférico responsable de la percepción del dolor (Bader et al., 2010).

4.4 Fitoterapia

Según la OMS, la fitoterapia es un neologismo utilizado por Henri Leclerc, médico francés (1870-1955), a principios de este siglo. Desde entonces, la palabra fitoterapia se ha

utilizado para referirse al uso de plantas medicinales con fines terapéuticos, lo que luego la diferenciaría de los métodos actuales de curación; drogas sintéticas o convencionales. En 1980 existe una definición más completa: "terapia complementaria que utiliza plantas o sus partes donde el empirismo de la medicina tradicional se convierte en una base científica", es decir la medicina tradicional u original se prueba en los siguientes laboratorios. Método científico para validar o descartar el uso popular. De esta manera, organizaciones e instituciones globales han tomado nota de este aspecto y difundido los resultados para garantizar el correcto uso, eficacia y seguridad de los recursos vegetales medicinales. Aunque reconocido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el problema de cómo armonizar la fitoterapia con la medicina convencional no ha sido completamente resuelto (Avello & Cisternas,2010).

La OMS reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades, así como su relevancia económica porque las plantas son una fuente para el descubrimiento de nuevos medicamentos que en algunos casos tienen un costo mucho menor que la síntesis de nuevos fármacos. El retorno del interés científico por las plantas medicinales, investigando su riqueza y variabilidad química, ha provocado una reevaluación de su uso en muchas partes del mundo, representando medios complementarios de curación, donde el empirismo terapéutico queda atrás dependiendo de la ciencia. la prueba, alineando la medicina tradicional con la terapia oficial de cada país (Bodeker & Kronenberg,2002).

4.4.1 *Heliopsis longipes*

Heliopsis longipes es una especie de la familia Asteraceae endémica de México, conocida comúnmente como chilcuage y utilizada en la medicina tradicional.

. Otros nombres con los que se le conoce son matricaria y chilcuage, este último más popular en la zona central de Potosí y derivado de la lengua náhuatl chilmeatl - chile, que significa "picante", y mecatl, "cordel" o "hilo", que alude to Roots tiene forma de hilo y tiene un sabor picante (picante). Su aspecto es similar al de un pequeño girasol, de ahí el nombre del género *Heliopsis* al que pertenece -del griego ἥλιος, helios, "sol"- y el epíteto específico *longipes* hace referencia a sus largas raíces -del latín longus, "largo". (González et al.,2020).

Algunos otros nombres registrados: ichcha, citado en la traducción de *De historia plantarum Novae Hispaniae* de Francisco Hernández; chilkuau, que significa chile de serpiente; Chilikuau, nombre utilizado en el municipio de San Joaquín, en Querétaro. *Heliopsis* en México. Hoy en día, esta especie se puede encontrar en puestos de hierbas en casi todo el país con nombres más modernos como sello de oro y raíz azteca.

Sólo se utilizan las raíces de *H. longipes*; en Guanajuato, San Luis Potosí y Querétaro el uso más frecuente es como especia en salsas y guisos diversos; Para ello se utilizan de cinco a siete raíces de chilcuage molidas. En la medicina tradicional se utiliza para aliviar el dolor de muelas, uniendo un pequeño trozo de raíz al diente dolorido; Para aliviar los

dolores musculares se utiliza la maceración en alcohol; Como antihelmíntico, se mastica un trozo de raíz en ayunas o se consume diariamente como alimento (García et al., 2004).

Un compuesto que se encuentra en abundancia en las raíces de esta planta y al que se atribuye gran parte de su actividad biológica con potenciales efectos beneficiosos es la afinina o espilantol; El primer nombre se debe a que erróneamente se le llamó *Erigeron affinis* debido a la confusión en el análisis químico de dos tipos de raíces (*Erigeron affinis* y *Heliopsis longipes*); El segundo nombre está asociado a las sustancias que contiene, que están registradas en el género *Spilanthus* (*Acmella*).

La afinina forma parte de un grupo de compuestos naturales bioactivos conocidos como alcanidas, compuestos con propiedades antiinflamatorias, bactericidas y fungicidas que se han encontrado en aproximadamente 33 familias, incluida una amplia gama de especies medicinales. Su estructura química consiste en un ácido graso insaturado unido a una amina, que se considera un derivado del amoníaco.

Debido a la naturaleza química de la afinina, su extracción requiere solventes como el etanol (alcohol etílico), que son utilizados empíricamente por comerciantes y usuarios de *H. longipes*, quienes maceran la raíz durante varios días y obtienen el extracto en alcohol para explotar sus propiedades. y se aplica localmente sobre la piel o las membranas mucosas, principalmente para la desinfección y curación de heridas y otros fines. (González et al., 2020).

4.4.1.1 Afinina

La afinina es la principal alcanida en las raíces de esta planta y es la principal responsable de los efectos biológicos específicos observados, entre los que se puede considerar la acción de un anestésico local, un estimulante sensorial, así como actividad insecticida y bactericida. Durante mucho tiempo, la afinina se consideró el único componente biológicamente activo de este tejido, cuyo extracto crudo se utilizó para estudiar su uso (García et al., 2004).

Según el tipo de enlace que contienen, las alcanidas se dividen en: olefinas alcanidas (que tienen solo dobles enlaces) y acetilenoalcanidas con al menos un triple enlace. Asimismo, existen alcanidas que tienen anillos homo o heterocíclicos.

Entre las alcanidas, la afinina es el componente principal de *H. longipes*; Sin embargo, se han identificado otros compuestos en concentraciones más bajas, como: borneol éter (compuesto 1), así como otras alcanidas: N-isobutil-8,10-dienoil-3Z-undecenamida (compuesto 2), N-isobutil-syn - 8,9-dihidroxi-2E,6Zdecadienamida undecenamida (compuesto 3) y N-isobutil-sin-6,9-dihidroxi-2E,7-edecadienamida undecenamida (compuesto 4).

Afinin es una isobutilamida alifática insaturada (N-isobutil-2E, 6Z, 8Edecatrienamida) de aspecto aceitoso, color amarillo, textura viscosa, soluble en disolventes apolares y prácticamente insoluble en soluciones ácidas y alcalinas. Las propiedades físicas y

químicas de la afinina incluyen: punto de ebullición 114 °C a una presión de 0,2 mm Hg, punto de fusión 23 °C y peso molecular 221,33 g/mol. Se compone de 75,96% de carbono, 10,47% de hidrógeno, 33% de nitrógeno y 7,235% de oxígeno (Hernández, 2009; López et al.,2011).

4.4.1.2 Mecanismos de acción de la afinina

El efecto antinociceptivo de la afinina se ha atribuido a diversos mecanismos de acción que incluyen la activación de los sistemas opioide, gabaérgico, serotoninérgico y la participación de la vía del NO/GMPC/KATP (óxido nítrico/guanosínmonofosfato cíclico/canales de potasio dependientes de ATP) (Ríos et al.,2007; Campos, 2010)

En cuanto a su efecto antiinflamatorio, la afinina se asocia con la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa y lipoxigenasa, que son necesarias para la síntesis de moléculas que median la inflamación como las prostaglandinas y otras (Cariño et al.,2010).

Con respecto al proceso de absorción de la afinina, se ha demostrado que permea por difusión pasiva a través de cultivos monocapa de células Caco-2 (10 µg/mL). De la misma forma, existe evidencia de que la afinina es capaz de penetrar la piel, la mucosa oral para luego llegar a la sangre y atravesar la barrera hematoencefálica en grandes cantidades (~ 98 %) (Veryser et al.,2016).

Se ha demostrado que otra alcaloide, la capsaicina, (con estructura química semejante a la afinina), puede unirse a los denominados receptores de potencial transitorio vanilloides subtipo 1 (TRPV1), los cuales están presentes en fibras nerviosas responsables de la sensación del dolor en el SNC. El receptor TRPV1 se ha asociado con procesos inflamatorios, hiperalgesia, dolor neuropático y visceral, incontinencia urinaria, tos crónica y síndrome del intestino irritable. (Caterina et al.,1999).

5. Métodos

Características del grupo control y del (los) grupo(s) experimental(es)

Los animales se alojaron en condiciones ambientales estándar ($25 \pm 1,8$ °C) con un ciclo de luz-oscuridad de 12 h, 40-70 % de humedad relativa, con comida y agua un mes antes para su acoplamiento, y en ayunas durante una noche (18 h) antes del día de los experimentos. Los experimentos se realizaron de acuerdo con las normas éticas relativas a investigación con animales de laboratorio (NOM-062-Z00-1999).

- Grupo control negativo por 3 ratones C57BL/6 macho que pesan entre 25 y 30 g sin colocación de algún fármaco.
- Control positivo conformado por 3 ratones C57BL/6 machos que pesan entre 25 y 30 g que se les ha aplicado de manera tópica Benzocaína
- Tres grupos de HLEE conformados por 3 ratones C57BL/6 machos que pesan entre 25 y 30 g que se les ha aplicado de manera tópica el extracto de *Heliopsis longipes*.

Extracto etanólico de HLEE

Obtención de material vegetal

Se adquirió 150 gr de raíz seca de *Heliopsis longipes* de manera comercial en la tienda Biotica de la Sierra SA de CV.

- Se realizó molienda adecuada de 60 g de *Heliopsis longipes*.
- Extracción Soxhlet
Se utilizaron 60 g de material vegetal y se colocaron en un cartucho de celulosa dentro de un extractor Soxhlet. El disolvente de extracción fueron 500 ml de etanol, que se llevó a un punto de ebullición de 65 °C mediante una capa protectora térmica. El solvente se colocó en un extractor Soxhlet y se mantuvo durante 48 horas.
- Evaporación mediante Rotavapor del solvente de extracción
Transcurrido el tiempo de extracción, el extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró con papel de filtro Whatman No. 1. El extracto se concentró en un rotavapor Yamato modelo RE301/VR300.
- Obtención del extracto crudo de *H. longipes*
El extracto se transfirió a un frasco previamente pesado, finalmente la concentración se colocó en un desecador de vidrio al vacío.

Prueba de placa caliente

Se utilizó el aparato convencional de placa caliente para medir la respuesta nociceptiva. Los ratones se colocaron sobre una superficie calentada (55 °C), y se registró como latencia de respuesta el tiempo entre la colocación del ratón en la plataforma y el movimiento/lamido de las patas traseras o el salto, posteriormente se realizaron 3 mediciones con intervalos de 10 minutos. Los animales fueron colocados sobre la placa caliente y se midió el tiempo de latencia con un cronómetro electrónico. Una vez terminada la medición, los animales son regresados a su caja de alojamiento.

- Los ratones recibieron HLEE de manera tópica en las 4 patas en concentraciones de 40 ,100 400 mg/kg y se colocaron en la placa térmica.
- Se usó benzocaína tópica como control positivo, respectivamente y se procedió a tomar las 3 mediciones correspondientes con 10 minutos de diferencia entre cada una de ellas.

Estudios histopatológicos

Los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical. Las patas de los ratones fueron fijadas en formaldehído al 4%, en buffer de fosfatos. Se descalcificaron en ácido fórmico al 10%. Se deshidrataron en alcohol etílico en concentraciones crecientes (60%, 80%, 90%, 100%, 2 horas en cada uno), se aclararon en xilol, y se incluyeron en parafina.

Se hicieron cortes en un micrótomó de 7 micras de espesor. Se tiñeron con H&E y Tricrómico de Masson para su análisis en el microscopio. Se tomaron fotomicrografías con un teléfono Samsung S23 adaptado al microscopio.

Análisis estadístico

I) Se utilizó estadística descriptiva: medidas de tendencia central y dispersión: rango, media, mediana, moda, desviación estándar, proporciones o porcentajes.

II) Por tener dos o más muestras, se utilizó estadística inferencial.

Para los resultados de periodo de analgesia para comparar entre dos grupos se empleó la prueba t de Student. Para diferencias entre los grupos se empleó análisis de varianza (ANOVA).

6. Resultados

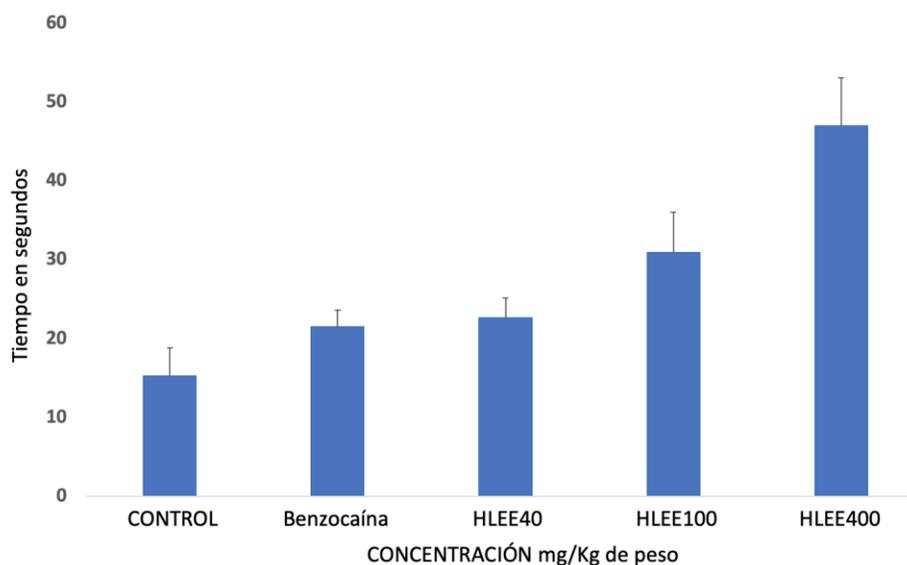


Figura 1. Se muestra la media y desviación estándar del tiempo en segundos del control, benzocaína y diferentes concentraciones de HLEE.

			Valores de p
CONTROL	vs	BENZOCAÍNA	0.037506856
CONTROL	vs	HLEE 40 mg/Kg	0.022744592
CONTROL	vs	HLEE 100 mg/Kg	0.001628053
CONTROL	vs	HLEE 400 mg/Kg	4.6251E-06

Tabla 1. Se muestra como todas las concentraciones del HLEE tienen capacidad analgésica, al igual que la benzocaína. Se observa como la capacidad de analgesia va de acuerdo con la concentración del HLEE.

			Valores de p
BENZOCAÍNA	vs	HLEE 40 mg/Kg	0.622366306
BENZOCAÍNA	vs	HLEE 100 mg/Kg	0.02081731
BENZOCAÍNA	vs	HLEE 400 mg/Kg	2.11061E-05

Tabla 2. Se muestra como la concentración de 40 mg/Kg de peso de HLEE no muestra diferencia con la benzocaína en el poder analgésico, sin embargo, a mayores concentraciones el HLEE tiene mejor efecto.

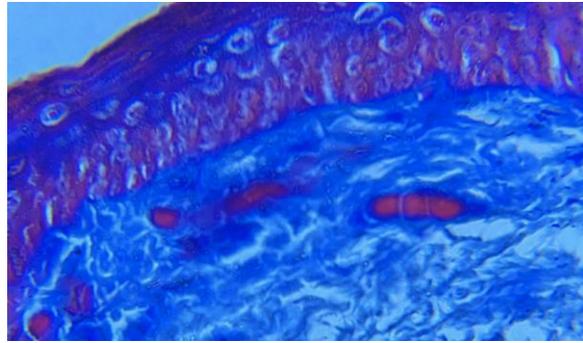
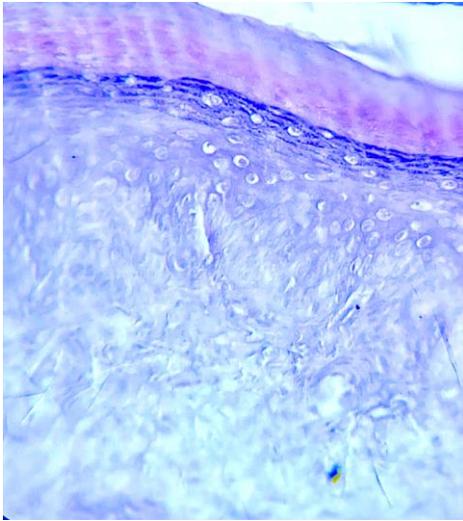


Figura 2. Fotomicrografía al microscopio de campo claro teñido con hematoxilina y eosina y con tricrómico de Masson donde se muestra la epidermis y dermis con morfología normal de la piel del ratón. Tratado con benzocaína.

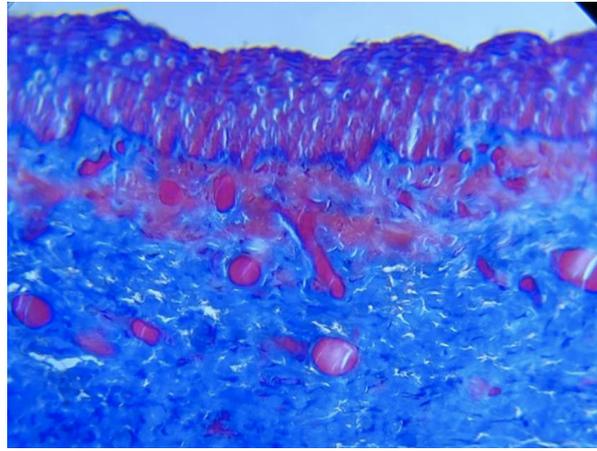
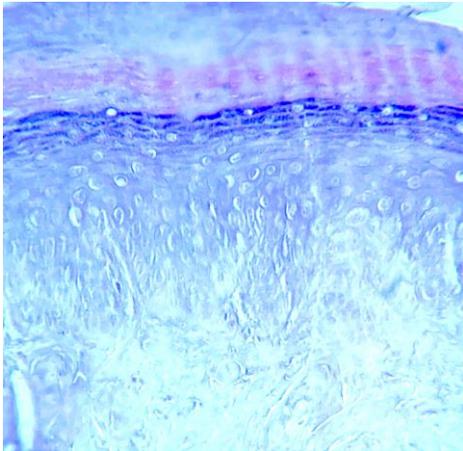


Figura 3. Fotomicrografía al microscopio de campo claro teñido con hematoxilina y eosina, y tricrómico de Masson donde se muestra la epidermis y dermis con morfología normal de la piel del ratón. Tratado con HLEE de 40 mg/Kg.

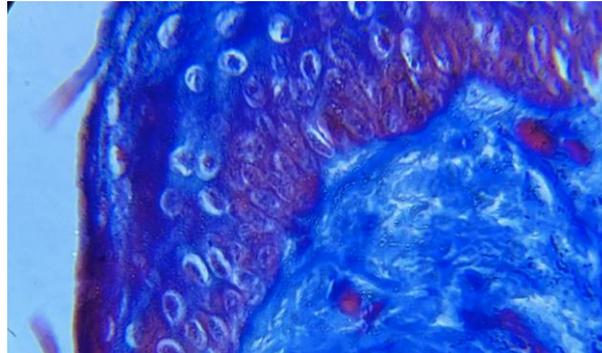
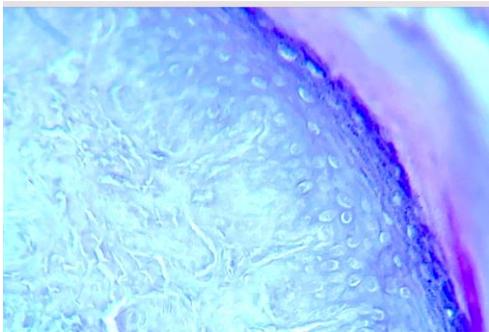


Figura 4. Fotomicrografía al microscopio de campo claro teñido con hematoxilina y eosina, y tricrómico de Masson donde se muestra la epidermis y dermis con morfología normal de la piel del ratón. Tratado con HLEE de 400 mg/Kg.

7. Discusión

Heliopsis longipes tuvo resultados prometedores, al tener efecto analgésico mayor que la benzocaína tópica desde la concentración menor estudiada de HLEE (10mg/kg), mismo efecto aumenta conforme la misma.

La actividad analgésica se evaluó en ratones usando un modelo de dolor bien aceptado: la prueba de placa caliente. Es un método confiable y fácil de usar para evaluar las respuestas nociceptivas (Gunn et al,2011). Se ha informado que es valiosa en la detección de fármacos analgésicos que actúan sobre el sistema nervioso central (Le Bas, et al.2001).

En la prueba clásica, los ratones reaccionan lamiéndose las patas y/o saltando (Menéndez et a.,2002), estos mismos signos se buscaron en los resultados del grupo control del presente estudio, llegando a un periodo promedio de 15 segundos para lograr observar alguna reacción antes mencionada.

Aunque los extractos obtenidos a partir de plantas medicinales se utilizan para fines diferentes, las técnicas involucradas en su producción son generalmente las mismas, independientemente de las pruebas biológicas que se pretendan realizar (Abubakar et al.,2020). Se ha demostrado que el uso de Soxhlet combinado con solventes polares como metanol permite obtener mayores rendimientos sobre otras técnicas (Adam et al., 2019), es por ello por lo que en este trabajo se indicó este método de extracción, así como la selección de etanol absoluto como solvente para un rendimiento absoluto a la hora del trabajar con el extracto.

En un artículo se concluyó que el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* presenta efecto antiinflamatorio en el edema inducido por AA y PMA en la oreja del ratón. Este efecto tópico podría estar relacionado con la presencia de afinina y otros componentes minoritarios de alcalamida en este extracto y asociado a la acción inhibitoria de estos compuestos sobre la COX y enzimas LOX. (Hernández et al.,2009). En nuestro caso el efecto medido únicamente fue la analgesia por medio de la placa caliente, y de igual forma se encontró un efecto mayor de analgesia a comparación de nuestro grupo de Benzocaína tópica.

Nuestros histopatológicos concuerdan con un estudio donde el análisis de otros órganos de ratones que fueron expuestos al extracto de *Heliopsis longipes* a diferentes dosis sistémicamente, y no se demostró ningún daño o cambio histopatológico (Cariño, et al.2010).

8. Conclusiones

El extracto de *Heliopsis longipes* demostró tener mayor efecto analgésico que la benzocaína utilizada en la prueba de placa caliente, al mismo tiempo concluimos que su efecto aumenta de la mano con la concentración del mismo extracto.

Todos los resultados midieron la analgesia y la toxicidad únicamente a nivel tópico, existen estudios donde se ha comprobado que a nivel sistémico tiene buen efecto, sin embargo, no ha sido comparado con anestesia local en el área odontológica, por lo cual se invita a su seguimiento.

A pesar de que existen numerosos estudios en la literatura donde se comprueba que el uso del extracto de esta planta no causa toxicidad incluso a nivel sistémico en ratones y que en varias regiones del país de México es utilizada de manera cotidiana por muchas personas, actualmente su aplicación en seres humanos todavía no se encuentra aceptado, por lo cual recomendamos una mayor investigación en ello, para que pueda llegar su aplicación a nivel odontológico, logrando de esta forma su aprovechamiento en área clínica.

9. LITERATURA CITADA

1. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J Pharm Bioallied Sci.* 2020 Jan-Mar;12(1):1-10.
2. Acosta-Madrid II, Castañeda-Hernández G, Cilia-López VG, Cariño-Cortés R, Pérez-Hernández N, Fernández-Martínez E, Ortiz MI. Interaction between *Heliopsis longipes* extract and diclofenac on the thermal hyperalgesia test. *Phytomedicine.* 2009 Apr;16(4):336-41.
3. Adam O, Abadi R, Ayoub S. Effect of extraction method and solvents on yield and antioxidant activity of certain sudanese medicinal plant extracts. *The Journal of Phytopharmacology* 2019; 8(5): 248–252.
4. Avello L M, Cisternas F I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile [Origins and situation of phytotherapy in Chile]. *Rev Med Chil.* 2010 Oct;138(10):1288-93.
5. Bader P, Ehtle D, Fonteyne V. Guía clínica sobre el tratamiento del dolor. European Association of Urology 2010.
6. Beecham GB, Bansal P, Nessel TA, Goyal A. Lidocaine. 2021 Dec 19. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan.
7. Bodeker G, Kronenberg F. A public health agenda for traditional, complementary, and alternative medicine. *Am J Public Health.* 2002 Oct;92(10):1582-91. Boyce R, Kirpalani T, & Mohan N. Actualizaciones de agentes de anestesia tópica y local. *Dent Clin North Am.* 2016;60: 445–471.
8. Cabo Valle M, Delgado Ruíz R, Cabo Díez J. Eficacia del uso odontológico de la anestesia tópica previa a la punción anestésica infiltrativa: Estudio doble ciego. *Av Odontoestomatol* 2011; 27(2): 99-105
9. Campos M, Ríos M, Aguilar, A. Antinociceptive effect of *Heliopsis longipes* extract and affinin in mice. *Planta Med.* 2010;76: 665–670
10. Cariño R, Gayosso J, Ortiz, M. Antinociceptive, genotoxic and histopathological study of *Heliopsis longipes* S.F. Blake in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2010;130: 216–221.
11. Caterina M, Rosen A, Tominaga M, Brake J, Julius D. A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature.* 1999;398: 436–441.
12. Covino B. Farmacología de los agentes anestésicos locales. *Hno. J Anaesth.* 1986;58: 701–716.
13. Crusiani A, Nieto M. Fisiopatología y tratamiento del dolor neuropático: avances más recientes. *Rev Soc Esp Dolor.* 2006;5: 312-327.
14. Diaz G, Bustos C. Evaluación de la estabilidad de un gel mucoadhesivo formulado con extracto de *S. aromaticum* y *H. longipes*. *Verano de la investigación científica* 2018; 4:858-862.
15. Garcia A, Ramirez E, Molina J. El género *Heliopsis* (heliantheae; asteraceae) en México y las alcaloides presentes en sus raíces. *Acta Botanica Mexicana* 2004;69: 115-131.

16. García E, Cortés C, Díaz E. Elaboración de una pastilla analgésica a través de moléculas activas de *Heliopsis longipes* (Chilcuague). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2020;(5):305-310.
17. Gonzalez M, Navarro G. *Heliopsis longipes*, una especie legendaria con un futuro por explorar. *Universitarios Potosinos* 2020 :4-89.
18. Gunn A, Bobeck EN, Weber C, Morgan MM. The influence of non-nociceptive factors on hot-plate latency in rats. *J Pain*. 2011 Feb;12(2):222-7.
19. Hernández I, Márquez L, Martínez I. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract and alkamides-derived from *Heliopsis longipes* roots. *Journal of Ethnopharmacology* 2009;(12):649–652.
20. Hernández, C. M. (2009). Tesis de grado: Evaluación del efecto de la afinina presente en extractos de *Heliopsis longipes* en la recuperación de ápices de vainilla sometidos a tratamientos con crioprotectores”. Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas, Orizaba, Veracruz.
21. Ho JTF, van Riet TCT, Afrian Y, et al. Adverse effects following dental local anesthesia: a literature review. *J Dent Anesth Pain Med*. 2021;21(6):507-525.
22. Khair-Ul-Bariyah S, Arshad M, Ali M, Din MI, Sharif A, Ahmed E. Benzocaine: Review on a Drug with Unfold Potential. *Mini Rev Med Chem*. 2020;20(1):3-11. doi: 10.2174/1389557519666190913145423. PMID: 31518221.
23. Kravitz N. El uso de anestésicos tópicos compuestos: una revisión. *J Am Dent Assoc*. 2007; (138): 1333-1339.
24. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev*. 2001 Dec;53(4):597-652.
25. López S, Aguilar B, Ríos M. . Minor alkamides from *Heliopsis longipes* S.F. Blake (Asteraceae) fresh roots. *Phytochem Let*. 2011 ;(4): 275– 279.
26. Macouzet, C. Anestesia local en la odontología 2008;(2ed). Manual moderno, pag 7-9.
27. McMahon S , Koltzberg M. Tratado del dolor. En. *Fisiología del dolor*. Ed. Elsevier. California, Estados Unidos, 2007;3: 526-745.
28. Menéndez L, Lastra A, Hidalgo A, Baamonde A. Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. *J Neurosci Methods*. 2002 Jan 15;113(1):91-7.
29. Ortiz M, Cariño R, Pérez N. Antihyperalgesia Induced by *Heliopsis longipes* Extract. *Proc. West. Pharmacol. Soc*. 2009;(52): 75-77.
30. Ríos M, Aguilar A, Gutiérrez M. Analgesic activity of affinin, an alkamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). *J Ethnopharmacol*. 2007;(110): 364–367.
31. Strechartz G, Berde C. Anestésicos locales. En: Millar RD. *Anestesia* Madrid: Harcourt-Brace, 1998;4:474-505.
32. Urbina, S., A., R. (2012). Tesis de grado: “Elaboración de un fitofármaco sólido con propiedades adelgazantes preparado con diferentes dosis a base de alcachofa (*cynara cardunculus* var *scolymus*), jengibre (*zingiber officinale*) y apio (*apium graveolens*) administrado a personas para comparar su eficacia.” Escuela superior politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba, Ecuador.
33. Veryser L, Taevernier L, Joshi T, Tatke P, Wynendaele E, Bracke N, Stalmans S, Peremans K, Burvenich C, Risseuw M. Mucosal and blood-brain barrier transport

- kinetics of the plant N-alkylamide spilanthol using in vitro and in vivo models. *BMC Complement Altern Med.* 2016; 16:177.
34. Virga C, Aguzzi A, Hubert S, Aramburú G, Ricco V. Estudio de eficacia clínica de dos formulaciones de anestesia tópica. *Acta odontol. venez.*2007; 45(3): 375-379.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Ana Karen López Márquez
Candidato para el Grado de
Especialista en Endodoncia

Tesis: EVALUACIÓN DEL EFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO DE *Heliopsis longipes*

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León el 23 de Julio de 1998, hija de Cipriano López Tavera y María Elena Márquez gallegos.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Cirujana Dentista en 2020 con mención honorífica, primer lugar en la generación.

PARTICIPACIONES EN CONGRESOS:

CONACAO 2022 MANEJO ENDODÓNTICO DE UNA MOLAR INFERIOR CON VARIACIÓN ANATÓMICA DE RADIX ENTOMOLARES: REPORTE DE CASO.

APÉNDICES



Figura 5. Extracción Soxhlet de HLEE



Figura 6. Extracto puro de HLEE