

Efecto antiinflamatorio de la *Ephedra americana* HYB sobre la encía de cobayos en procedimiento quirúrgico

Arriola-Guillén L, Sacsquispe-Contreras SJ. Efecto antiinflamatorio de la *Ephedra americana* HYB sobre la encía de cobayos en procedimiento quirúrgico. Rev Estomatol Herediana. 2010; 20(4):185-190.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antiinflamatorio de la *Ephedra americana* HyB en cirugía gingival en cobayos. Materiales y Métodos: Estudio experimental en 32 cobayos: 16 cobayos a los que se les aplicó el extracto etanólico de la planta (grupo experimental) y 16 el grupo control. Se les realizó incisión tipo media luna en la encía inferior, con desprendimiento del colgajo y se suturó; luego se obtuvieron biopsias excisionales a las 48 horas y a los 7 días para evaluación histopatológica del proceso inflamatorio. El análisis estadístico incluyó pruebas de U de Mann Whitney y suma de rangos asignados de Wilcoxon. Resultados: Al comparar el proceso inflamatorio en ambos grupos a las 48 horas hubo diferencia significativa, siendo menos intenso en el grupo experimental. A los 7 días de evaluación, la inflamación fue menor en el grupo experimental y en algunos casos hubo reparación final. La evolución del proceso inflamatorio para ambos grupos, mostró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$); sin embargo, fue mejor en el grupo experimental. Conclusión: La aplicación de *Ephedra americana* HyB en la encía de cobayos expuesta al procedimiento quirúrgico, reduce el grado de inflamación y permite que la reparación sea más rápida.

Palabras clave: EPHEDRA / ENCÍA / INFLAMACIÓN / COBAYAS.

Antiinflammatory effect of the *Ephedra americana* HyB on the gingival tissue of guinea pigs exposed to the surgical procedure

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antiinflammatory effect of the *Ephedra americana* HyB in gingival surgery in guinea pigs. Material and methods: Experimental study in 32 guinea pigs: 16 guinea pigs to which we applied the ethanol extract of the plant (experimental group) and 16 of the control group. A crescent type incision was performed in the lower gum, a flap was detached and it was sutured; then excisional biopsies were obtained at 48 hours and 7 days for histopathological evaluation of the inflammatory process. Statistical analysis included Mann Whitney tests and Wilcoxon rank test. Results: When the inflammatory process in both groups were compared at 48 hours, there was no significant difference, being less intense in the experimental group. After 7 days of evaluation, the inflammation was lower in the experimental group and in some cases there was final repair. The evolution of the inflammatory process in both groups showed statistically significant difference ($p < 0.05$) but was better in the experimental group. Conclusion: The application of *Ephedra americana* HyB on the gingival tissue of guinea pigs exposed to the surgical procedure, reduces the degree of inflammation and allows faster repairs.

Key words: EPHEDRA / GINGIVA / INFLAMMATION / GUINEA PIGS.

Luis Arriola Guillén¹
Sonia Sacsquispe-Contreras¹

¹Docente del Departamento Académico de Medicina y Cirugía Buco Maxilofacial. Facultad de Estomatología. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Correspondencia

Luis Arriola Guillén
Alfa Centauro 0-1 La calera de Monterrico - Lima 33, Perú
e-mail: luis.arriola@upch.pe

Recibido : 9 de noviembre de 2010

Aceptado : 15 de diciembre de 2010

Introducción

La inflamación, como respuesta específica del organismo ante una determinada injuria, puede ser iniciada por diferentes medios; ésta respuesta tiene características comunes cualquiera sea el origen de la inflamación. Así, el tejido oral está expuesto a ella debido a múltiples causas, como un procedimiento quirúrgico (1,2). La *Ephedra americana* HyB es una planta típica del Perú, usada desde épocas muy antiguas de manera tradicional para diversas patologías y está asociada de manera tradicional al efecto antiinflamatorio por ciertos poblado-

res del medio (2).

El efecto antiinflamatorio es caracterizado por la disminución del edema, recuperación de la estructura y funciones normales del tejido, después de la eliminación del agente extraño que la provoca. En inflamación aguda hay acumulación del líquido, componentes del plasma, estimulación intravascular de plaquetas y leucocitos polimorfonucleares. En la reacción inflamatoria crónica, la lesión persiste, se suceden alteraciones vasculares y exudativas que representan la etapa de reparación celular, existe una respuesta vascular

continua con presencia de macrófagos, linfocitos y plasmocitos. De acuerdo a la intensidad del proceso inflamatorio se puede medir en: proceso inflamatorio ausente, agudo leve, agudo moderado, agudo severo, simplemente crónico, crónico con tejido de granulación o reparación final (3-7).

La *Ephedra americana* HyB, comúnmente llamada Pinco-pinco, es un arbusto muy ramificado, que pertenece a la familia de las Efedráceas, esta planta se encuentra en la sierra y en algunas lomas cerca del mar del Perú, dentro de sus principios activos destacan los

alcaloides, efedrina, pseudo-efedrina, N-metil efedrina, taninos, y flavonoides (2). Los principios activos de una planta, son los responsables de generar estas propiedades terapéuticas y sus diferentes acciones para el control de la salud (3). Dentro de la composición de esta planta, destacan los taninos y flavonoides que proporcionan a las plantas medicinales diferentes propiedades entre ellas la antiinflamatoria (3,8,9).

Existen estudios (10-13) de diversas plantas con propiedad antiinflamatoria determinada, a las cuáles se les realizaron análisis de sus composiciones; encontrándose dentro de ellas, principios activos como los flavonoides, taninos y alcaloides. Van Velzen et al. encontraron que la *Pluchea carolinensis* Jacq (Salvia de playa) que presenta propiedad antiinflamatoria, tiene como principios activos taninos y flavonoides. En 1996 Ortega et al. (14) manifestaron que existen plantas medicinales como la *Bonafousia* sp (Sanango), *Croton menthodorum*, entre otras, que son usadas como antiinflamatorios, y que al ser evaluadas con cromatografía presentaron taninos y flavonoides.

El propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto antiinflamatorio de la *Ephedra americana* HyB sobre la encía de cobayos, expuesta al procedimiento quirúrgico.

Material y métodos

El presente estudio fue de tipo experimental, un ensayo de laboratorio; cuyo método fue la observación estructurada. El grupo de estudio estuvo constituido por 32 cobayos basados en estudios previos (1,9,15,16). Del total, 16 cobayos fueron asignados al tratamiento experimental con *Ephedra americana* HyB y 16 cobayos al tratamien-

to placebo que conformaron el grupo control. Criterios de selección: cobayos de raza Perú, aparentemente sanos según el criterio del Veterinario, machos, con peso de entre 400 gramos a 600 gramos y de uno a dos meses de edad.

Las variables estudiadas fueron: grado de inflamación, de acuerdo a la escala empleada para medir el grado de inflamación. Tratamiento asignado, en dos grupos, grupo experimental aplicando *Ephedra americana* HyB, y grupo control con placebo (agua destilada). Tiempo, covariable, a las 48 horas y a los siete días.

Procedimientos y técnicas: a cada animal se le asignó aleatoriamente uno de los dos tipos de tratamientos. Para su identificación, a cada animal se le asignó un código numérico, y se registró en una ficha. Los grupos experimental y control estuvieron conformados cada uno por 16 cobayos. La asignación a los grupos y el tiempo de observación fue al azar.

Obtención del extracto etanólico: se consiguió la planta en la ciudad del Cusco (Perú); se hizo secar a temperatura ambiente por espacio de siete días, sin exposición a los rayos solares. Luego se procedió a triturarla con ayuda de un molino manual y se almacenó en envases de vidrio (capacidad de 500mg cada uno).

Los envases fueron trasladados al Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Aquí, se colocó 150mg de la planta molida en un balón de vidrio de 500mg de peso, para seguidamente verter 200ml de etanol absoluto (puro) y se procedió a su mezcla. El balón de vidrio fue fijado a un retenedor metálico, situado por encima de un envase de vidrio con

agua que estuvo sobre un calentador eléctrico y seguidamente se conectó al equipo de reflujo. De ésta manera se completo el sistema de reflujo y se dejó en éste sistema al preparado por dos horas a 50°C.

Luego, se filtró el preparado a otro envase de vidrio y se llevó el extracto al evaporador rotatorio eléctrico o rota vapor (Büchi, modelo R-114, Suiza), por 40 minutos. Finalmente el extracto fue colocado en un depósito sobre un envase de vidrio que contenía agua y fue calentado a fuego lento por tres horas, obteniéndose así 10mg de extracto etanólico de *Ephedra americana* HyB que fue envasado en un frasco de vidrio y se colocó en refrigeración hasta el día siguiente para su uso. Todo el procedimiento se volvió a repetir hasta obtener la cantidad necesaria del extracto, que fue de 144mg. Dicho preparado tuvo como tiempo aproximado de un mes para su utilización.

Procedimiento quirúrgico: se trabajó en el Laboratorio de Técnica Operatoria y Cirugía Experimental de la Facultad de Medicina de la misma universidad. Los procedimientos quirúrgicos se realizaron en dos etapas: la primera se llevó a cabo con 16 cobayos (ocho cobayos de cada grupo) para su evaluación a las 48 horas; y los otros para evaluarlos a los siete días. Después, se procedió a pesarlos y colocarlos en la mesa de trabajo. Para el procedimiento quirúrgico se les aplicó anestesia general por vía intraperitoneal, con tiopental sódico (0,5ml/500gr de peso), registrándose la fecha y hora de inicio. Luego de anestesiado, se procedió a colocar al animal en posición decúbito dorsal y se inició abriéndoles la boca, al retraer el labio inferior por ambos lados. Luego con una hoja de bisturí N°11 colocado en un mango N°3, se realizó una

incisión semilunar en la encía insertada, en el sector antero inferior del lado derecho del animal a 2mm por debajo de la zona del incisivo derecho. Después con ayuda de una legra se realizó el desprendimiento del colgajo hacia el fondo de surco, posteriormente se devolvió el colgajo a su posición normal y se suturó, realizando un punto de sutura con aguja y seda 5/0.

En el grupo experimental, se administró el extracto etanólico en forma tópica, aplicándolo por encima del área afectada con una espátula metálica, buscando cubrir toda el área de la herida. En seguida, se posicionó el labio inferior con ambas manos del operador buscando modelar el preparado aplicado, debido a la consistencia pegajosa y semisólida, y se revisó la aplicación final. Se volvió a aplicar el extracto en la zona afectada del cobayo 2 veces al día durante el periodo de observación. En el grupo control se aplicó solamente agua destilada por medio de una gasa humedecida, cerrándose la herida con el mismo procedimiento que para el grupo experimental.

Luego de finalizar el procedimiento quirúrgico, se sacrificaron a los ocho primeros cobayos (cuatro de cada grupo), a las 48 horas del procedimiento; posteriormente fueron sacrificados los otros ocho cobayos (cuatro de cada grupo) a los siete días del procedimiento. Fueron sacrificados por inhalación con sobredosis de cloroformo en una campana, registrando su fecha y hora de sacrificio, seguidamente se obtuvieron biopsias excisionales de la zona en que se realizó la cirugía, con ayuda de una hoja de bisturí N°11 colocada en un mango para bisturí N°3, con 10mm de margen de seguridad en todas las direcciones hasta hueso.

Las biopsias, previamente codificadas de acuerdo al número del animal y al grupo que pertenecen, se fijaron en formol al 10% durante 24 horas como mínimo a temperatura ambiente.

Técnica histológica: las muestras obtenidas de cada animal fueron procesadas en el Laboratorio de Patología Oral de la Clínica Dental de la Facultad de Estomatología, de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El procesamiento fue el convencional de tejidos para el estudio histopatológico. Todas las muestras se incluyeron de acuerdo a los criterios establecidos por el investigador y después fueron procesadas por el técnico para luego ser colocadas en parafina. Posteriormente se realizaron cortes seriados de 3um de espesor, en sentido longitudinal. Finalmente las secciones fueron teñidas con hematoxilina-eosina (H-E) para su observación.

Observaciones histológicas: los cortes histológicos fueron evaluados mediante microscopio de luz a 40X y 400X. La evaluación histológica fue realizada por una patóloga oral, quien desconoció el tratamiento asignado a cada espécimen (ciego) y evaluó todos los especímenes una vez finalizados todos los procedimientos, registrándose en la Ficha de recolección de datos.

Consideraciones éticas: la ejecución de este trabajo contó con la aprobación del Comité Institucional de Ética sobre el uso de animales de experimentación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, teniendo en cuenta el reglamento para el trabajo con animales de laboratorio.

Análisis estadístico: se realizó el análisis bivariado para comparar el grado de inflamación de la encía expuesta y no expuesta al procedimiento quirúrgico en cada grupo uti-

lizando la prueba de suma de rangos asignados de Wilcoxon, para comparar el grado de inflamación de la encía expuesta entre ambos grupos se usó la prueba de U de Mann-Whitney, a las 48 horas y a los siete días respectivamente. Finalmente para comparar la evolución del grado de inflamación de la encía expuesta a las 48 horas con el de siete días, en ambos grupos se usó la prueba de suma de rangos asignados de Wilcoxon. El estadista desconocía a que grupo pertenecían los resultados (cegamiento).

Resultados

Al evaluar el grado de inflamación de la encía expuesta y no expuesta al procedimiento quirúrgico, en cobayos del grupo control a las 48 horas, hubo diferencia estadísticamente significativa (suma de rangos asignados de Wilcoxon, $p=0,019$). En el grupo experimental, al comparar el grado de inflamación de la encía expuesta y no expuesta se encontraron procesos inflamatorios diferentes. Al comparar el grado de inflamación de la encía expuesta entre el grupo control y experimental a las 48 horas, se encontró diferencia significativa (prueba U de Mann-Whitney $p=0,038$), lo que demuestra que los cobayos a los que se les aplicó el factor experimental (*Ephedra americana HyB*) tuvieron menos actividad inflamatoria que a los que no se les aplicó (Tabla 1).

A los siete días en ambos grupos, al comparar el grado de inflamación entre la encía expuesta y no expuesta se encontró diferencia significativa (suma de rangos asignados de Wilcoxon, $p=0,011$). Y al comparar el grado de inflamación de la encía expuesta de los grupos control y experimental, no se encontró diferencia significativa (U de Mann-

Withney, $p=0,105$). Sin embargo, dentro del grupo a los que se aplicó el factor experimental (*Ephedra americana HyB*), tres muestras presentaron mejores condiciones en comparación a los que no lo recibieron, dos muestras presentaron reparación final, y en las muestras restantes se observó similitud en cuanto a las características inflamatorias del grupo control (Tabla 2).

Al comparar la evolución del grado de inflamación de la encía expuesta del grupo control, entre las 48 horas y siete días, se obtuvo diferencia significativa (suma de rangos asignados de Wilcoxon, $p=0,010$) y en el grupo experimental también se encontró diferencia estadísticamente significativa (suma de rangos asignados de Wilcoxon, $p=0,008$) (Tabla 3).

Discusión

El grupo experimental de la presente investigación, estuvo constituido por 32 cobayos que cumplieron los criterios de selección, basado en estudios semejantes (1,9,16) y también se determinó mediante la prueba piloto. La distribución en ambos grupos (control y experimental) y la distribución para los dos tiempos de evaluación (48 horas y siete días) fue realizada al azar. Se tuvo mucho cuidado con la metodología empleada en éste estudio, que aún se encuentra en la fase preclínica (animales de experimentación) dentro del orden secuencial de estudios, para posteriormente ser aplicado en seres humanos. La escala empleada para medir la inflamación en éste trabajo de investigación, también fue usada en otros trabajos de investigación (7-10); sin embargo se pone énfasis en que la escala usada sino mide la inflamación de acuerdo a su evolución; de esta manera es imprescindible hacer una correcta interpre-

Tabla 1. Grado de inflamación de la encía de cobayos, del grupo control y experimental en las que se realizó procedimiento quirúrgico a las 48 horas.

Grado de inflamación	Control	Experimental	Valor p*
N	8	8	---
Mediana	2,50	2,00	0,038
Desviación cuartil	0,50	0,38	---
Valor mínimo	2	1	---
Valor máximo	4	2	---

* Prueba de U de Mann-Witney

Tabla 2. Grado de inflamación de la encía de cobayos, del grupo control y experimental en las que se realizó procedimiento quirúrgico a los 7 días.

Grado de inflamación	Control	Experimental	Valor p*
N	8	8	---
Mediana	5	6	0,105
Desviación cuartil	0,50	0,75	---
Valor mínimo	3	5	---
Valor máximo	6	7	---

* Prueba de U de Mann-Witney

Tabla 3. Grado de inflamación de la encía expuesta al procedimiento quirúrgico, en cobayos del grupo experimental a las 48 horas y a los 7 días.

Grado de inflamación	48 Horas	7 días	Valor p*
N	8	8	---
Mediana	2,00	6,00	0,008
Desviación cuartil	0,38	0,75	---
Valor mínimo	1	5	---
Valor máximo	2	7	---

* Prueba de suma de rangos asignados de Wilcoxon

tación por un especialista. Además, se realza que el proceso de interpretación de las muestras, llevado a cabo por la patóloga y el análisis estadístico, fueron ciegos en ambos casos (doble ciego).

En la evaluación de las muestras, a las 48 horas, la encía no expuesta al procedimiento quirúrgico (grupo control) casi no presentó inflamación, en tanto la encía expuesta, si presentó actividad inflamatoria, producto de la lesión provocada mediante el procedimiento quirúrgico. Pero en el grupo experimental, grupo control, la inflamación está presente, probablemente debido a microtraumatismos y que clínicamente no eran perceptibles, de igual manera la encía expuesta mostró inflamación pero en mayor intensidad y básicamente procesos agudos, producto del procedimiento quirúrgico.

En la presente investigación se

demuestra el efecto antiinflamatorio de la *Ephedra americana HyB*, al comparar el grado de inflamación de las encía expuestas de los grupos control y experimental, evaluados a las 48 horas, en donde la encía de cobayos del grupo experimental a los que se le aplicó el extracto etanólico tuvo menor intensidad y actividad inflamatoria que los cobayos del grupo control (Fig. 1 y 2).

Se sabe que los principios activos de una planta, son los responsables de generar las propiedades terapéuticas para el control de la salud (3), siendo los principios activos más importantes y relacionados con el efecto antiinflamatorio los flavonoides, taninos y alcaloides, los cuales se encuentran en la *Ephedra americana HyB*. Wei et al. (17) demostraron la actividad antiinflamatoria de los flavonoides aislándolos,

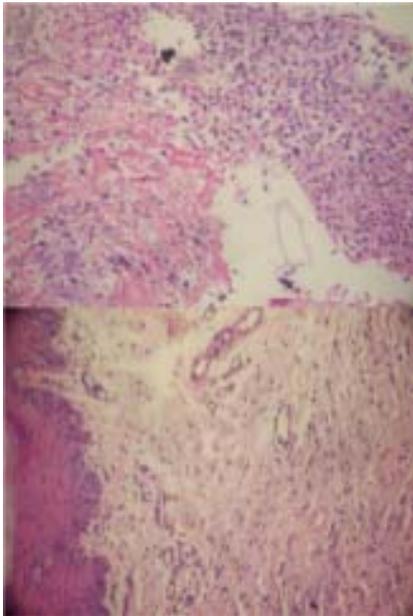


Fig. 1. Grupo Experimental: muestra a las 7 horas (vista superior) mostrando tejido conjuntivo fibroso con infiltrado inflamatorio agudo constituido por PMN (H-E, 40X). En la vista inferior se aprecia el tejido después del procedimiento quirúrgico a las 48 horas (H-E, 40X).

encontrando que éstos actuaban sobre los mediadores específicos de la inflamación. Datta et al. (18) describieron que los flavonoides glucósidos poseen de suave a moderado efecto antiinflamatorio. Cho et al. (19) vieron el efecto antiinflamatorio de los bioflavonoides, observando que inhiben la acción de las citoquinas e interleukinas IL-1, mediadores que participan en el proceso inflamatorio. Subarnas y Wagner (20) evaluaron la actividad antiinflamatoria de los taninos y concluyeron que su mecanismo de acción puede ser debido a la inhibición de la biosíntesis de la prostaglandina, debido a que tienen un efecto inhibitorio en la vía de la ciclooxigenasa.

A los siete días en la encía expuesta al procedimiento quirúrgico del grupo control, se muestra la presencia de tejido de granulación inmaduro o maduro y para la encía no expuesta no se presentan valores

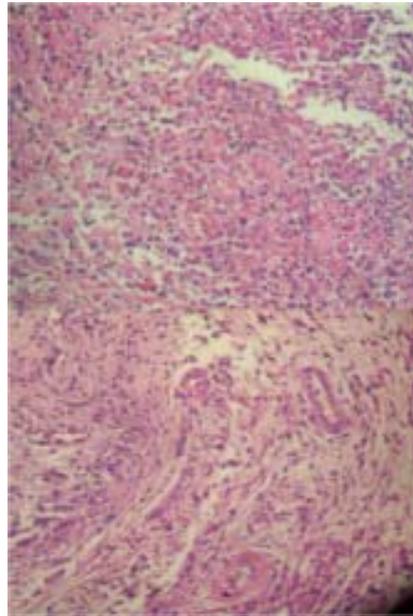


Fig. 2. Grupo Control: En la vista superior se aprecia a las 7 horas, un denso infiltrado inflamatorio formando microabscesos (H-E, 40X). Después del procedimiento quirúrgico a las 48 horas, se observa infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario moderado difuso (H-E, 40X).

similares debido a que no sufrió ninguna lesión, pero si presenta procesos inflamatorios más leves producto de la actividad del propio animal. En el grupo experimental, la encía expuesta presentó tejido de granulación principalmente maduro y reparación final, y la encía no expuesta carente de lesiones casi no presentó inflamación.

Se debe tener en cuenta que a los siete días de producida una lesión que produjo inflamación, ésta ya debe estar reparada o estar en vías de reparación, salvo que el agente que la causó continúe y se manifieste mediante un proceso inflamatorio simplemente crónico. En el presente estudio se observó que la encía de cobayos a las que se les aplicó el extracto etanólico presentó características más favorables llegando incluso a la reparación final y no presentó procesos agudos a diferencia de la encía de cobayos del grupo control.

Respecto a la evolución del proceso inflamatorio, en ambos grupos se evidenciaron características semejantes, a las 48 horas y a los siete días, observándose disminución de la inflamación para llegar a la reparación final; sin embargo se recalca que la reparación final solo estuvo presente en algunas muestras evaluadas del grupo experimental y no en el grupo control. Finalmente la aplicación de la *Ephedra americana HyB* sobre la encía de cobayos, después de realizado el procedimiento quirúrgico, produce que el grado de inflamación sea menor y que la reparación sea más rápida.

La importancia de éste estudio es de carácter teórica, además de tener relevancia clínica al presentar una sustancia antiinflamatoria, alternativa para el control de la inflamación; también tiene relevancia social, ya que al concluir con las fases de investigación, podremos contar con una alternativa, probablemente más económica.

Agradecimiento

Agradecemos al Dr. Eduardo Bernabé Ortiz, por su apoyo en el análisis estadístico de los resultados del presente trabajo.

Referencias bibliográficas

1. Jurupe H, Iparraguirre D, Perez E. Estudio de la actividad antiinflamatoria de extractos de *Bacharis Lanceolata* en animales de laboratorio. *Anales de la Facultad de Medicina UNMSM*. 1995; 56:10-2.
2. Palacios Q. *Plantas Medicinales del Perú*. 1ra ed. Lima: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONCYTEC; 1993.
3. García L, Rojo D, García L, Hernández A. *Plantas con Propiedades Antiinflamatorias*. *Inv Bio*. 2002; 21:214-6.

4. Chang M. Comparación de la respuesta inflamatoria en el tejido subcutáneo al cemento a base de hidróxido de calcio "Apexit" y al cemento a base de bálsamo del Perú "Endobalsam" en ratas Holtzman. [Tesis para Optar el Título de Cirujano-Dentista]. Lima Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 1994.
5. Villena H. Estudio histológico e histométrico de la respuesta inflamatoria a un cemento experimental de conductos radiculares sin eugenol [Tesis Doctoral]. Lima Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 1992.
6. Alvarado M. Estudio comparativo "in vivo" de la respuesta inflamatoria del tejido celular subcutáneo de ratas Holtzman a los cementos para obturación de conductos radiculares: Endobálsam, AH Plus, Endión y el Cemento Experimental a base de un extracto etanólico de *Plantago major* L. (Llantén) [Tesis para Optar el Título de Cirujano-Dentista]. Lima Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2002.
7. Flores M. Respuesta inflamatoria del tejido conjuntivo subcutáneo de ratas Holtzman al cemento sellador de conductos, calciobiotico root canal sealer (CRCS) [Tesis para Optar el Título de Cirujano-Dentista]. Lima Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2003.
8. García L. Plantas con propiedades antiinflamatorias. Plantas medicinales [publicación periódica en línea] [Citada 2002]; 21:[3 pantallas]. Disponible en: U R L : h t t p : / / www.plantasmedicinales.org/ a b s t r a c t / s e p t 2 0 0 2 / Ephedra_americana.htm
9. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*. 2002; 17:271-1.
10. Bagchi D, Bagchi M, Stohs S, Ray SD, Sen CK, Preuss HG. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 957:260-70.
11. Mitjavila MT, Rodríguez MC, Sáiz MP, Lloret S, Moreno JJ. Effect of degree of unsaturation in dietary fatty acids on arachidonic acid mobilization by peritoneal macrophages. *Lipids*. 1996; 31(6):661-6.
12. Ródenas J, Mitjavila MT, Carbonell T. Simultaneous generation of nitric oxide and superoxide by inflammatory cells in rats. *Free Radic Biol Med*. 1995; 18(5):869-75.
13. Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M, Roy S. Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing: an emerging paradigm. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 957:239-49.
14. Ortega T, Carretero MT, Pascual E, Villar AM. Antiinflammatory activity of ethanolic extracts of plants used in traditional medicine in Ecuador. *Phytoter Res*. 1996; 10:S121-2.
15. Rosales Clares VP, Gross Fernández MC, Rosales Clares RA, García Díaz RC, León Sarabia JE, Vidal M. Evaluación farmacológica de *Pluchea carolinensis* Jacq. (salvia de playa) en animales de experimentación. *Rev Cubana Plant Med*. 1999; 3(2):65-7.
16. Miranda Nuñez MR. Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria de *Piper Elongatum* (Matico) administrado por vía oral, comparado con Indometacina en Cobayos. *SITUA*. 2001; 19:
17. Wei BL, Weng JR, Chiu PH, Hung CF, Wang JP, Lin CN. Antiinflammatory flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* and *Artocarpus communis*. *J Agric Food Chem*. 2005; 53(10):3867-71.
18. Datta BK, Datta SK, Chowdhury MM, Khan TH, Kundu JK, Rashid MA, Nahar L, Sarker SD. Analgesic, antiinflammatory and CNS depressant activities of sesquiterpenes and a flavonoid glycoside from *Polygonum viscosum*. *Pharmazie*. 2004 Mar;59(3):222-5.
19. Cho KJ, Yun CH, Yoon DY, Cho YS, Rimbach G, Packer L, Chung AS. Effect of bioflavonoids extracted from the bark of *Pinus maritime* on proinflammatory cytokine interleukin-1 production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000; 168:64-71.
20. Subarnas A, Wagner H. Analgesic and anti-inflammatory activity of the proanthocyanidin shelleagueain A from *Polypodium feei* METT. *Phytomedicine*. 2000; 7(5):401-5.