

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DEL EXTRACTO TOTAL
ETANÓLICO DEL FRUTO DE *Physalis peruviana* L., EN UN MODELO DE
ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL INDUCIDO POR DSS EN
RATONES**

**DANIELA PATRICIA AMARÍS RODRÍGUEZ
JAIME ANDRÉS SALGADO DUEÑAS**



**Universidad
de Cartagena**
Fundada en 1827

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
CARTAGENA DE INDIAS D. T Y C.**

2018

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DEL EXTRACTO TOTAL
ETANÓLICO DEL FRUTO DE *Physalis peruviana* L., EN UN MODELO DE
ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL INDUCIDO POR DSS EN
RATONES**

DANIELA PATRICIA AMARÍS RODRÍGUEZ

JAIME ANDRÉS SALGADO DUEÑAS

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Químico
Farmacéutico**

LUIS ALBERTO FRANCO OSPINA. QF., Ph.D
Director

JENNY PAOLA CASTRO GUERRERO. QF., Msc.
Co-Director



**Universidad
de Cartagena**
Fundada en 1827

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
CARTAGENA DE INDIAS D. T Y C.

2018

Nota de Aprobación del Jurado.

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

La Universidad de Cartagena ni el jurado examinador, se hacen responsables de los conceptos emitidos en el presente trabajo.

CARTAGENA DE INDIAS, 2018

AGRADECIMIENTOS

Daniela Amarís Rodríguez

A Dios, el forjador de mi camino, mi padre celestial, que me acompaña y me levanta cuando tropiezo y caigo; a Él porque su amor y bondad hacia mí no tienen límites y porque me ha permitido superar las adversidades y sonreír ante mis logros.

A mis padres Patricia Rodríguez y Eduardo Amarís por ser los principales promotores de mi sueño de ser Química Farmacéutica, por confiar y creer en mí y en mis expectativas, por estar al pendiente de mí en cada agotadora noche de estudio, por desearme y anhelar siempre lo mejor para mi vida. Gracias por cada uno de sus consejos y por cada una de sus palabras que me han guiado durante toda mi vida. Esta tesis es un logro más para mi vida y que sin dudas ha sido posible gracias a ustedes, su ayuda, su amor incondicional, su comprensión, su cariño y su paciencia.

A mi hermano Cristian Amarís por brindarme su apoyo y ayuda en todo momento, defenderme, cuidarme y por acompañarme siempre.

A mis abuelos Armando Rodríguez y Norma Trespalacios por su confianza, ayuda, enseñanzas, mensajes de aliento y excelente manera de instruirme para afrontar la vida; y a mi tío Armando Rodríguez por brindarme apoyo su durante en la carrera.

A la Universidad de Cartagena y a la Facultad de Ciencias Farmacéuticas por brindarme la oportunidad de estudiar esta profesión y permitirme usar sus instalaciones.

Al grupo de investigación Evaluación Biológica de Sustancias Promisorias y en especial al profesor Luis Franco y Jenny Castro por abrirme las puertas del grupo de investigación y dedicar su tiempo para sacar adelante la tesis; y a los demás miembros Nely Mejía, Daneiva Caro y Johana Cuadro.

A la Asociación Colombiana de Estudiantes de Química Farmacéutica por acogerme, enriquecer mis conocimientos académicos y culturales y por ayudarme ser una profesional íntegra.

A todos los profesores, en especial a Wilson Maldonado, Rubén Salas, Lucía Álvarez y Julián Martínez; por guiarme durante la carrera, transmitirme sus conocimientos y formarme como una profesional íntegra.

A los evaluadores de este proyecto, los profesores Harold Gómez y Fredyc Díaz por sacar de su tiempo para revisarlo y realizar cada uno de sus aportes y sugerencias.

A Jaime Salgado por ser un gran compañero de tesis y amigo; gracias por compartir conmigo estos cinco años de carrera, por brindarme su confianza, comprensión, por darme apoyo todas las veces que lo he necesitado y por haber visto siempre lo mejor en mí.

A Briggitt Perrián, Eilín Bohórquez y Jairo Hernández por brindarme su amistad y apoyo incondicional.

A Andrea Boneu y Taylin Conrado por ofrecerme su amistad sin esperar nada a cambio y por depositar su confianza en mí.

A Nayelhi Sarmiento, Maira Martínez, Danna Benítez, Karla Cassiany, Kevin Bolaños, Donaldo Zabaleta, María Elvira Guardo, Luis Gaviria, Leonardo Luna, Marwin Perdomo y Jorge Montero por brindarme su amistad, cariño y confianza.

AGRADECIMIENTOS

Jaime Andrés Salgado Dueñas

Primeramente, agradezco a Dios por permitirme cumplir este agotador pero reconfortante trabajo. También agradezco a mis familiares por siempre estar presentes, en especial a mis padres Jaime Salgado Mendoza y Matilde Dueñas Meza, quienes dieron todo de sí por que recibiese una excelente educación. Agradezco a mis hermanos, por hacer de mis largas noches de estudio algo más llevadero y a mi tío José Dueñas, quien estuvo muy pendiente durante este proceso educativo.

Agradezco a mi alma mater, la gloriosa Universidad de Cartagena y a la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, por abrirme sus puertas y permitirme estudiar esta carrera. Agradezco a todos y cada uno de los docentes que me dieron clases durante estos 5 años, porque cada uno desde su área, logró formarme como profesional y especialmente menciono a los profesores Lucia Álvarez, Tulia Florián, María Teresa Vélez, Yaneth García y Rubén Salas, quienes fueron unos excelentes maestros y que de alguna forma u otra me hicieron apreciar mucho más la carrera.

También agradezco al Grupo de Investigación de Evaluación Biológica de Sustancias Promisorias, el cual nos abrió sus puertas, nos permitió fortalecer el aprendizaje adquirido en las aulas y llevar a cabo este trabajo de grado, a sus miembros, quienes siempre se mostraron dispuestos a colaborarnos en lo que fuese necesario y en especial a nuestros tutores Jenny Castro y Luis Franco Ospina, por sus asesorías y toda la ayuda prestada, siendo excelentes guías para la realización de este trabajo.

A los evaluadores de este trabajo, Harold Gómez y Fredyc Díaz quienes objetivamente aportaron sugerencias que permitieron mejorar el proyecto presentado.

A mi compañera y amiga Daniela Amarís, quien durante estos 5 años ha sido una excelente compañera de fórmula, gracias por sus consejos, su paciencia, su dedicación y su entrega a pesar de todas las dificultades que conllevó realizar este trabajo y demás actividades académicas.

A la ACEQF, por permitirme ver otras perspectivas de la profesión, por ayudarme a fortalecer el espíritu de liderazgo, a mejorar habilidades de trabajo en equipo y a complementar mi formación como profesional integral fuera del aula de clases.

Agradezco a mis compañeros de clase, quienes durante estos 5 años se convirtieron en una segunda familia para mí. En especial agradezco a aquellos compañeros y amigos con los que pude contar e hicieron más grato este proceso, entre ellos menciono a Briggith Períñan, Eilin Bohórquez, Jairo Hernández, Kevin Bolaño, Cristina Romero, Karla Cassiany, Nayelhi Sarmiento, Danna Benítez y María Villota. Por último, quiero hacer especial agradecimiento a Andrés Castaño, quien en estos últimos meses ha sido un acompañante extraordinario y a quien no me alcanzan las palabras para expresar mi inmensa gratitud por su compañía, su apoyo incondicional y sus consejos.

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN	15
2. INTRODUCCIÓN	16
3. MARCO TEÓRICO.....	18
3.1 ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL	18
3.1.2 DEFINICIÓN.....	18
3.1.3 EPIDEMIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL...	18
3.1.3.1 Epidemiología de la enfermedad inflamatoria intestinal en Colombia	20
3.1.4 CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL....	21
3.1.4.1 Enfermedad de Crohn (EC).....	21
3.1.4.2 Colitis ulcerosa (CU).....	21
3.1.5 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	21
3.1.5.1 Digestivas	21
3.1.5.2 Manifestaciones extraintestinales.....	21
3.1.6 PATOGENIA DE LA EII.....	22
3.1.6.1 Enfermedad de Crohn	22
3.1.6.2 Colitis ulcerosa	23
3.1.7 DIAGNÓSTICO DE LA EII.....	23
3.1.8 ETIOLOGÍA DE LA EII	24
3.1.8.1 Consideraciones genéticas	24
3.1.8.2 Consideraciones ambientales	25
3.1.8.2.1 Dieta	25
3.1.8.3 Consideraciones sobre la microbiota.....	26
3.1.8.4 Consideraciones de la respuesta inmune.....	26
3.1.8.4.1 Sistema inmune intestinal.....	26
3.1.8.4.1.1 Defectos de la regulación inmunitaria en la enfermedad inflamatoria intestinal	27
Respuesta inmune innata.....	27
Respuesta inmune adaptativa	30
3.2 <i>Physalis peruviana</i> L.	30
3.2.1 Uchuva (fruto).....	31

3.3 MODELOS ANIMALES PARA EVALUAR EII.....	31
3.3.1 Modelos químicos para evaluar EII	32
3.3.1.1 Modelo inducido por DSS.....	32
4. METODOLOGÍA.....	34
4.1 Recolección e identificación taxonómica del material vegetal.....	34
4.2 Caracterización fisicoquímica de la fruta	34
4.3 Preparación del extracto total etanólico	34
4.4 Caracterización fitoquímica de la fruta	34
4.4.1 Tamizaje preliminar fitoquímico.....	34
4.4.2 Cuantificación fenoles totales.....	35
4.4.3 Cuantificación de flavonoides.....	35
4.5 Material biológico	36
4.6 Preparación de la dieta suplementada con extracto de uchuva	36
4.6.1 Preparación del alimento.....	36
4.6.2 Determinación de los porcentajes a los cuales la comida fue suplementada con el extracto	36
4.7 Ensayos de toxicidad	37
4.7.1 Ensayo de toxicidad aguda	37
4.7.2 Ensayo de Toxicidad Crónica.....	37
4.8 Evaluación del efecto modulador anti-inflamatorio del extracto total etanólico del fruto de uchuva empleando un modelo de EII inducido por DSS	37
4.9 Evaluación macroscópica y análisis histológico.	38
4.10 Análisis estadístico.....	38
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
5.1 Identificación taxonómica del material vegetal	39
5.2 Caracterización fisicoquímica de la fruta.....	39
5.3 Preparación del extracto total etanólico	40
5.4 Caracterización fitoquímica de la fruta	40
5.5 Ensayos de toxicidad	41
5.5.1 Ensayo de Toxicidad Aguda.....	41
5.5.2 Ensayo de Toxicidad Crónica.....	41
5.6 Evaluación del efecto modulador anti-inflamatorio del extracto total etanólico del fruto de uchuva empleando el modelo de EII inducido por DSS.....	43

5.7 Evaluación macroscópica del colon	45
5.8 Evaluación histopatológica del tejido colónico.....	48
6. CONCLUSIONES.....	52
7. RECOMENDACIONES	53
8. BIBLIOGRAFÍA	54
9. ANEXOS	62
9.1 ANEXO N°1. Identificación taxonómica de <i>Physalis peruviana</i> L.....	62
9.2 ANEXO N°2: Permiso del comité de ética.....	64
9.3 ANEXO N°3. Test hipocrático para evaluar toxicidad.....	65
9.4 ANEXO N°4. Registro de análisis histopatológico de Riñón	66
9.5 ANEXO N°5. Registro de análisis histopatológico de hígado.....	66
9.6 ANEXO N°6. Registro de control de peso.	67
9.7 ANEXO N°7. Registro de índice de actividad de enfermedad.....	68
9.8 ANEXO N°8. Registro de análisis histopatológico del colon.	69

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

FIGURAS

Figura 1. Respuesta inmune innata en el intestino.

Figura 2. Análisis histológico de tejido hepático de ratones tratados con extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana*.

Figura 3. Análisis histológico de tejido de riñón de ratones tratados con extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana*.

Figura 4. Medida de variación de peso durante los días que se indujo el modelo de EII con DSS.

Figura 5. Cambios del índice de actividad de la enfermedad durante los días que se indujo la EII con DSS.

Figura 6. Evaluación macroscópica de los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS.

Figura 7. Daño macroscópico de los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS.

Figura 8. Análisis histopatológico usando la tinción de H&E en los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS.

Figura 9. Análisis histopatológico usando la tinción de PAS en los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS.

TABLAS

Tabla 1: Parámetros fisicoquímicos determinados en el fruto de Uchuva.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS

%: Porcentaje.

±: Mas o menos.

°C: Grados Celcius.

µL: Microlitro.

µmol: Micromol.

AINE: Antiinflamatorio No Esteroideo.

ANOVA: Análisis de Varianza.

AOAC: Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales (por sus siglas en inglés: Association of Oficial Agricultural Chemists).

ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero.

ATG16L1: Proteína relacionada con la autofagia 16-1.

CI: Colitis Indeterminada.

cm: Centímetros.

cm²: Centímetros cuadrados.

CU: Colitis Ulcerosa.

DC: Células Dendríticas.

DSS: Sulfato de Dextrano Sódico.

E.coli: Escherichia coli.

E.E.M.: Error Estándar de la Media.

EC: Enfermedad de Crohn.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

EII: Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

ENA-78: Péptido activador de neutrófilos epiteliales.

g: gramos.

GWAS: Estudio de asociación del genoma completo.

H&E: Hematoxilina y Eosina.

HTAB: Hexadeciltrimetilamonio.

IFN- γ : Interferón gamma.

IL-12: Interleucina 12.

IL-13: Interleucina 13.

IL-17A: Interleucina 17A.

IL-17F: Interleucina 17 F.

IL-2: Interleucina 2.

IL-21: Interleucina 21.

IL-23: Interleucina 23.

IL-4: Interleucina 4.

IL-5: Interleucina 5.

IL-6: Interleucina 6.

IL-6: Interleucina 6.

IL-8: Interleucina 8.

ILC: Células Linfoides Innatas.

IRGM: Proteína M de la familia GTPasa relacionada con la inmunidad.

JAK2: Janus quinasa 2 (gen).

Kg: Kilogramos.

LPS: Lipopolisacarido.

m.s.n.m: Metros sobre nivel del mar.

M: Concentración Molar de la solución.

m: metros.

MAPKs: Protein quinastas activadas por mitógeno.

MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos 1.

mg/Kg: Miligramos por kilogramo.

mg: Miligramos.

min: Minutos.

mL: Mililitros.

MPO: Mieloperoxidasa.

MUC1: Mucina 1, asociada a la superficie celular.

MUC3: Mucina 3, asociada a la superficie celular.

MUC5B: Mucina 5B, asociada a la superficie celular.

N: Normalidad de la solución.

n: número de muestras.

N°: Número.

NF-κB: Factor Nuclear potenciador de las cadenas Ligeras kappa de las células B.

nm: Nanómetros.

NO: Óxido nítrico.

NO₂: Dióxido de Nitrógeno.

NOD2: Dominio de Oligomerización por unión de nucleótidos que contiene la proteína 2.

NTC: Norma Técnica Colombiana.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

P.p: *Physalis peruviana* Linnaeus.

***P. peruviana* L.:** *Physalis peruviana* Linnaeus.

PAMP: Patrones Moleculares Asociados a Patógenos.

PAS: Ácido periódico shiff.

PPAR-γ: Receptor Gamma activado por el Proliferado de Peroxisoma.

RORγt: Receptor Huérfano Gamma relacionado.

rpm: Revoluciones por minutos.

SNP: Polimorfismo de Nucleótido Único.

SO₂: Dióxido de Azufre.

spp: Especies.

STAT-1: Transductor de señal y activador de la transcripción 1.

STAT-3: Transductor de señal y activador de la transcripción 3.

STAT-4: Transductor de señal y activador de la transcripción 4.

TGF- β : Factor de Crecimiento Transformante Beta.

Th1: T ayudante tipo 1.

Th17: T ayudante tipo 17.

Th2: T ayudante tipo 2.

TLR: Receptor Tipo Toll.

TLR4: Receptor 4 Tipo Toll.

TNBS: Ácido Trinitrobencenosulfónico.

1. RESUMEN

La enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII), es una patología en la que se da una inflamación crónica del tubo digestivo, encontrándose dentro de los más comunes la colitis Ulcerosa (CU) y la Enfermedad de Crohn (EC), las cuales desencadenan una serie de signos y síntomas extraintestinales y se han asociado a tumores malignos gastrointestinales. Por lo tanto, al tener en cuenta las consecuencias que tiene la EII en una persona, la búsqueda de un agente en la dieta que module los síntomas resulta de interés, siendo este un motivo para la búsqueda de alternativas que, desde la medicina tradicional, han sido usadas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Entre estas alternativas, se encuentra el fruto de la especie *Physalis peruviana* L. (uchuva), cuyo cáliz ha mostrado un potente efecto antiinflamatorio por lo que se considera importante evaluar si el consumo de la fruta podría tener un efecto similar en la modulación de la incidencia o en el agravamiento de la enfermedad.

En este orden de ideas, se llevó a cabo el proyecto expuesto en este trabajo, en el cual se evaluó el efecto anti- inflamatorio del extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana* L. (uchuva), empleando un modelo subagudo de enfermedad inflamatoria intestinal inducido por DSS en ratones, esto previa caracterización fisicoquímica del fruto y fitoquímica del extracto total etanólico del fruto. El extracto total del fruto de P.p se obtuvo por rotavaporación del fruto liofilizado y macerado con etanol al 96%, al cual se evaluó posteriormente la toxicidad. El efecto anti-inflamatorio se evaluó en los ratones a los cuales se les indujo el modelo de EII durante los 10 últimos días del ensayo. Una vez finalizado, el tejido colónico extraído de los animales, fue evaluado a nivel macroscópico y microscópico.

Los resultados demostraron que el extracto total etanólico cuenta con metabolitos como cumarinas, glucósidos cardiotónicos y compuestos fenólicos; además se demostró que hay un posible efecto anti-inflamatorio por parte del fruto de uchuva, ya que logró reducir los efectos de la EII, observados al evaluar la variación de peso, el índice de actividad de enfermedad y los efectos en el tejido colónico a nivel macroscópico e histológico a la concentración de 0.15%; corroborándose su potente uso como agente modulador de la inflamación etnofarmacológicamente.

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es una enfermedad crónica idiopática en la que existe una inflamación de la mucosa intestinal por alteración de la respuesta inmune. Esta se puede manifestar como enfermedad de Crohn (EC), colitis ulcerosa (CU) y EII no clasificable. Por presentar períodos de remisión y actividad de duración variable, su tratamiento es complejo (Simian *et al.*, 2013). La EII se ha asociado a tumores malignos gastrointestinales, tales como el cáncer colorrectal (la segunda causa de cáncer en ambos sexos) y en menor medida se ha relacionado a neoplasias extraintestinales, destacando el linfoma, cáncer de piel, carcinoma urotelial y tumores neuroendocrinos (Meyer *et al.*, 2015). La incidencia y prevalencia de la EII ha aumentado con el tiempo y en las diferentes regiones del mundo, especialmente en países de Sudamérica y África, donde la incidencia era muy baja, indicándose su surgimiento como enfermedad a nivel mundial (World Gastroenterology Organization, 2015).

El aumento de la incidencia en países desarrollados y en vía de desarrollo coincide con los cambios en la dieta, las condiciones de saneamiento y los hábitos de estilo de vida contemporáneos. Siendo importante exaltar que a pesar de que el incremento en la incidencia de la EII puede atribuirse a una evolución de la diversidad genética, existe un papel crítico por parte de los factores ambientales como lo es la dieta en la modulación de los fenotipos clínicos de esta patología a lo largo del tiempo (Shouval & Rufo, 2017).

A partir de esto se ha investigado el efecto de los alimentos, encontrándose que el consumo de frutas ha mostrado tener influencia en la disminución de la incidencia de la enfermedad (Owczarek *et al.*, 2016). Esto ha conllevado a que se hagan estudios experimentales con distintos frutos e incluso órganos de plantas, en los que se han encontrado que, por sus contenidos de flavonoides, taninos y otros metabolitos se pueden presentar efectos antiinflamatorios y antioxidantes de los cuales se estima que modulan las consecuencias de la EII (Orsi *et al.*, 2014).

En este orden de ideas cabe resaltar la importancia de investigar el posible efecto modulador de la EII por parte de frutos colombianos, en especial de aquellos que son altamente consumidos y que popularmente se usan como antiinflamatorios, tal como es el caso del fruto de *Physalis peruviana* L. (uchuva), el cual se ha caracterizado por tener diversas propiedades a nivel etnofarmacológico, atribuido en gran medida a la presencia de polifenoles, withanólidos (lactonas esteroidales), vitaminas, proteínas, minerales y ácidos (principalmente oleico y linoléico) presentes en esta fruta; los cuales, según estudios realizados fortalecen el nervio óptico, controlan la amibiasis, calcifican los huesos, y además presentan efectos antiinflamatorios, antitumorales, antibacteriales, antifúngicos, antihepatotóxicos y efectos hipocolesterolémicos; los cuales se le atribuyen a los fitoesteroles presentes en el aceite de la semilla y de la pulpa (Marín *et al.*, 2010; Cerón *et al.*, 2010).

En un estudio reciente en el extracto etéreo del cáliz de *P. peruviana* L. se demostraron efectos antiinflamatorios a nivel intestinal, que podrían estar relacionados con la presencia de flavonoides, terpenoides y glucósidos en la planta, los cuales han permitido que se dé una reducción de la actividad de la enzima MPO y que por ende se disminuya la infiltración de neutrófilos y edemas en el tejido colónico; el extracto del cáliz además ha favorecido la reducción de los niveles de las citocinas proinflamatorias TNF- α e IL-1 β y la disminución de la liberación de NO (Castro *et al.*, 2015).

Sin embargo, a pesar de conocerse las propiedades presentes en diversos órganos de *Physalis peruviana* L., hoy día se desconoce si al consumirse el fruto se genere un efecto modulador contra la enfermedad inflamatoria intestinal, por lo cual se soporta el objetivo de este trabajo que consistió en evaluar el efecto anti-inflamatorio del extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana* L. (uchuva), empleando un modelo de enfermedad inflamatoria intestinal inducido por DSS en ratones.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

3.1.2 DEFINICIÓN

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es una afección en la que se presenta una inflamación crónica del tubo digestivo, caracterizada por la alternancia de periodos de actividad (recidivas o brotes) con fases de exacerbación y remisión. Dentro de esta enfermedad, se incluyen dos enfermedades con diferentes características clínicas y evolución: colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (EC), y una tercera, que comparte características de ambas: la enfermedad inflamatoria intestinal no clasificada o colitis indeterminada (CI). La colitis ulcerosa ataca exclusivamente a la mucosa del colon, mientras que la enfermedad de Crohn puede afectar a todo el tracto digestivo (desde la boca al ano), histológicamente se caracteriza por la afectación transmural de la mucosa y la presencia de granulomas no caseificantes. Por otro lado, la colitis indeterminada afecta exclusivamente al colon y sus características histológicas, endoscópicas y clínicas, diferentes a las de la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (Martínez Gómez, 2015). Cabe mencionar que estas enfermedades están asociadas a manifestaciones extraintestinales, pudiendo afectar los ojos, la piel, los huesos, el hígado, el sistema nervioso, el corazón y con menor frecuencia los pulmones (Chaparro & Gisbert, 2016).

3.1.3 EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

La enfermedad inflamatoria intestinal es una afección que hasta hace unas décadas únicamente mostraba alta incidencia y prevalencia de EII en los países industrializados; por ejemplo, América del Norte, Europa del Norte y del Oeste, conllevando a denominar la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn como enfermedades del "mundo occidental". Sin embargo, en los últimos años, estudios han reportado que en algunos países fuera de los anteriormente mencionados se ha reportado un significativo aumento de la incidencia de esta enfermedad, lo cual

ha disminuido la brecha epidemiológica entre países industrializados y países en desarrollo. Este cambio de cifras en países en los que poco se reportaba esta enfermedad, se cree que puede estar relacionado con los factores ambientales, como el estilo de vida y la comida occidental, la urbanización, una mayor conciencia de la enfermedad y un acceso más fácil a las técnicas modernas de diagnóstico (Vegh *et al.*, 2017).

Concretamente, se estima que la prevalencia de esta enfermedad en Estados Unidos está en torno al 0.201 y al 0.238%. En Europa, más específicamente en Noruega se estima que hay mayor prevalencia con 0.505% para la colitis ulcerativa y en Italia con 0.319% para la enfermedad de Crohn. El gradiente nortesur, tiende a desaparecer en Australia y Nueva Zelanda donde también se ha reportado alta incidencia de ambas enfermedades (Salgado-Boquete *et al.*, 2016). En Latinoamérica, pocos son los estudios, sin embargo, trabajos hechos en Brasil, Puerto Rico, Panamá y Argentina reportan incidencia entre 1,2 a 4 por 100.000 habitantes y prevalencias de 20 a 100 por 100.000 habitantes, y a su vez indican el crecimiento de la incidencia a través de los años (Vargas, 2010).

Los tipos de EII presentan variaciones en su epidemiología, en lo que respecta a la EC, se ha determinado que ha aumentado su incidencia (4,5/100.000), mientras que la de CU (2/100.000) se ha estabilizado, aunque existen variaciones en distintas regiones. La mayoría de los casos se diagnostican entre la segunda y la tercera década de la vida, solo un 5% antes de los 5 años de edad y un segundo pico en la tercera edad entre los sesenta y ochenta años, correspondiendo la mayoría de los casos a CU o formas no clasificadas. Mientras que la EC es más frecuente en varones (1,5:1), no existe predominio de sexo en la CU. La prevalencia global de la enfermedad es del 0,4% (Martínez Gómez *et al.*, 2016).

La EII además de predominar en países industrializados, también lo hace en áreas urbanas, siendo más frecuente en raza caucásica y especialmente en judíos (Martínez Gómez, 2015). Se ha determinado que la prevalencia disminuye progresivamente en caucásicos no judíos, afroestadounidenses, hispanos y asiáticos (Kasper *et al.*, 2015).

Se ha informado que estudios respaldan que la incidencia de la enfermedad está muy ligada a los estilos de vida de los países desarrollados, teniendo en cuenta que se ha determinado que inmigrantes de primera generación del sur nacidos en países desarrollados como Gran Bretaña presentan tasas de CU similares a la de la población general del país, respaldando la idea de que además de la genética y la predisposición inmunológica, el medio ambiente influye determinantemente en la incidencia (Berstein, 2017).

3.1.3.1 Epidemiología de la enfermedad inflamatoria intestinal en Colombia

En Colombia se han registrado pocos estudios epidemiológicos de la EII, lo cual deja poco claro el grado de incidencia de esta enfermedad. Estos estudios se han realizado en ciudades principales como Cartagena, Medellín y Bogotá. El primero de ellos fue realizado en la ciudad de Bogotá en 1991, en este se reportó que de 108 casos de enfermedad inflamatoria intestinal (EII) recolectados durante 22 años, 98 correspondían a CU y 10 a EC, la CU fue reportada como la tercera más frecuente (18%) después de la colitis isquémica (30%) y la infecciosa (20%), en último lugar, la EC (2%) (Aguirre *et al.*, 2012). Más recientemente el estudio realizado en la ciudad de Cartagena en 2010, mostró que de 26 pacientes con EII, cuya edad media era 40 +/- 12,7 años (rango 17-79); seis individuos tenían EC y 20 se diagnosticaron con CU y la prevalencia general estimada para la EII fue de 29 X 105 (Yepes *et al.*, 2010). Por otro lado, en el estudio realizado en Medellín en el año 2010, se encontró que en una serie de 202 pacientes con EII, la más frecuente fue la colitis ulcerativa (80,7%), seguida por la enfermedad de Crohn (15,8%) y la enfermedad intestinal inflamatoria no clasificable (3,5%), siendo la relación colitis ulcerativa con enfermedad de Crohn de 4,9:1; en dicho estudio no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre hombres y mujeres (Juliao *et al.*, 2010).

3.1.4 CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

3.1.4.1 Enfermedad de Crohn (EC)

La enfermedad de Crohn es un proceso inflamatorio que se caracteriza por el compromiso transmural fistulizante que puede afectar todo el tracto digestivo y la región perianal. Se considera que el síntoma fundamental es la diarrea con o sin sangre, pero se asocia a manifestaciones heterogéneas con periodos de exacerbación y remisión, que incluyen dolor abdominal, pérdida de peso, anemia, fiebre, astenia, anorexia y, en algunos casos, obstrucción intestinal, fístulas perianales y rectovaginales que son complejas y suelen no cicatrizar (Álvarez, 2017).

3.1.4.2 Colitis ulcerosa (CU)

La colitis ulcerosa es una enfermedad crónica que solo afecta la capa mucosa del colon que resulta de la interacción de factores genéticos y ambientales. El curso clínico de la enfermedad es impredecible, y se caracteriza por episodios de remisión y recaídas o exacerbaciones. a diferencia de la enfermedad de Crohn (EC), afecta exclusivamente al colon (Yamamoto-Furusho *et al.*, 2017).

3.1.5 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

3.1.5.1 Digestivas

A nivel del tracto gastrointestinal se presentan manifestaciones tales como dolor abdominal, diarrea con moco, rectorragia, sangrado, cólicos, retorcijón y pérdida de peso. La intensidad de estos síntomas se presenta de acuerdo al subgrupo evolutivo que presente el paciente y al tipo de Enfermedad inflamatoria intestinal que padezca (Martínez Gómez, 2015).

3.1.5.2 Manifestaciones extraintestinales

La EII presenta varias manifestaciones fuera de del sistema digestivo, lo cual complica el diagnóstico y la calidad de vida del paciente, dentro de dichas

manifestaciones se encuentran afecciones en el sistema musculoesquelético, se presentan trastornos en la piel, en los ojos, enfermedad tromboembólica, enfermedades hepatobiliares. Estudios recientes han señalado que dichas manifestaciones se pueden presentar inclusive años antes de que se diagnostique la enfermedad y han determinado que un 25% de los pacientes presentan a lo largo de su historia clínica tienen una combinación de hasta 5 manifestaciones extraintestinales (Hernández-Tejero *et al.*, 2017).

3.1.6 PATOGENIA DE LA EII

3.1.6.1 Enfermedad de Crohn

Al ser una enfermedad inflamatoria crónica, se da ulceración y engrosamiento de la pared intestinal de forma continua en las capas de la grasa mesentérica, muscular, mucosas y serosas. En este caso las células viajan desde la sangre hasta los intestinos y producen inflamación por producción de IL-8, MCP-1 y ENA-78 en células endoteliales y células epiteliales, en las que se podrían establecer un gradiente quimiotáctico capaz de influir en el aumento de la migración de monocitos-macrófagos, granulocitos y linfocitos del torrente sanguíneo a través del endotelio hacia la mucosa y la submucosa (Mahdi, 2015). El desencadenamiento de esta respuesta inmune, se debe a la activación de las respuestas Th1 y Th17, siendo de esta manera la respuesta Th1 mediada por la IL-12, el factor de crecimiento TGF- β y los factores de transcripción STAT-4, STAT-1 y T-bet; mientras que la Th17 es mediada por IL-6, IL-23, TGF- β y ROR γ t (Oliver & Ibáñez, 2008).

A nivel histológico se presenta agregación de macrófagos y se comienza a dar la presencia de granulomas no caseificantes, agregados linfoides transmurales, hiperplasia de la fibra nerviosa, desorganización discontinua de la arquitectura de las criptas y la presencia de fisuras en el tejido (Múzes *et al.*, 2012).

3.1.6.2 Colitis ulcerosa

Histológicamente en la colitis ulcerosa se presenta una inflamación crónica en el tejido del colón, la mucosa suele estar alterada, los neutrófilos y los eosinófilos se acumulan en el epitelio, lo que a menudo conlleva a que se presente inflamación severa, además se presentan abscesos de las criptas, erosiones y ulceración en el tejido (Peyrin–Biroulet *et al.*, 2014).

La inflamación en la colitis ulcerosa es atribuida a células naturales asesinas, las cuales activan las IL-5 e IL-13 (Oliver & Ibáñez, 2008). Consecuentemente y teniendo en cuenta que la colitis ulcerosa se asocia con daño a la barrera de la mucosa, permitiendo que la microflora luminal desencadene una respuesta inflamatoria sostenida y desinhibida, cabe afirmar que las células inflamatorias TH9 perpetúan la apoptosis de enterocitos e inhiben la cicatrización de la mucosa. Mientras que la IL-13, contribuye a la lesión epitelial. Además, las células linfoides innatas, homeostáticas en estado estacionario, contribuyen a la producción de citocinas, perpetuando la inflamación. Por otro lado, también es importante mencionar que el receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR- γ), el cual regula la inflamación casada por NF- κ B, se reduce en los colonocitos de pacientes con colitis ulcerosa, implicando un vínculo causal (Ungaro *et al.*, 2017).

3.1.7 DIAGNÓSTICO DE LA EII

Para diagnosticar la EII no existe ninguna prueba específica, por ello el diagnóstico se debe hacer con base en los signos y síntomas, con ayuda de pruebas de laboratorio que den indicio de la enfermedad y con ileocolonoscopia, endoscopia alta y estudio baritado intestinal, las cuales sirven para hacer el diagnóstico diferencial entre EC y CU y además para valorar la intensidad y extensión de la inflamación (Medina, 2009).

3.1.8 ETIOLOGÍA DE LA EII

La etiología de la EII no está completamente descifrada. Actualmente se cree que está relacionado con una interacción compleja entre desencadenantes ambientales que pueden causar un cambio en la microbiota en un hospedador que genéticamente susceptible y cuya respuesta inmunológica no puede regular negativamente en un estado inflamatorio. Por lo cual se considera que la incidencia de la EII es producto de la sinergia de los factores mencionados (Hashash & Hartman, 2017).

3.1.8.1 Consideraciones genéticas

La consideración genética que justifica la aparición de la EII cada vez tiene más peso, esto teniendo en cuenta que estudios recientes han llevado el número de loci génicos asociados a la EII a 163, de los cuales 110 están asociados con ambas enfermedades (EC y CU), 30 asociados específicamente con EC y 23 asociados específicamente con CU (Jostins *et al.*, 2012).

Por otra parte también cabe destacar que en estudios epidemiológicos se ha señalado que aproximadamente un 10% de los pacientes con EII presenta antecedentes familiares y, en caso de enfermedad en un familiar de primer grado, existe un riesgo estimado de desarrollo de EII del 2 al 10%; lo cual respalda las sospechas del efecto genético en la aparición de la enfermedad (Menchén, 2016).

Dentro de la variedad de genes que se han relacionado con la incidencia de la EII se encuentra el NOD2, considerado como un gen de susceptibilidad para la EC que codifica una proteína que se expresa principalmente en la mayoría de los leucocitos y en las células epiteliales intestinales y activa el factor de transcripción nuclear NF- κ B y la vía de señalización de las proteincinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas, mitogen-activated protein kinases), la cual desempeña una función esencial en el desarrollo de reacciones inmunitarias innatas efectivas frente a bacterias (Menchén. 2016).

Gracias al estudio de asociaciones genéticas en el genoma completo o Genome Wide Association Studies (GWAS) y a la identificación de polimorfismos de nucleótido único (SNP), se ha podido describir una asociación significativa entre la EII y el gen IL23R que codifica una subunidad del receptor para la citocina proinflamatoria IL-23, un péptido implicado en la generación de células Th17. Destacando que la vía Th17 e IL-23 está bien establecida en la patogénesis de la EII, con loci genéticos de susceptibilidad IL23R, IL12B, JAK2 y STAT3 identificados en UC y EC (Zhang & Li, 2014).

3.1.8.2 Consideraciones ambientales

Son múltiples los factores ambientales que han mostrado tener la capacidad de incidir en la aparición de la EII, dentro de estos son importantes de mencionar el tabaquismo, la dieta, las drogas de abuso, fármacos como los AINE, aspirina y los antibióticos, la geografía, el estrés social, la higiene y el elemento psicológico; siendo el tabaquismo un elemento que ha mostrado tener efecto protector para la CU, pero que aumenta el riesgo de padecer EC. Estudios recientes también han descrito que la deficiencia de vitamina D había sido común en pacientes con EII diagnosticados y señalaron que la baja cantidad de vitamina D había contribuido al aumento del riesgo de EII. También cabe mencionar que la contaminación del aire afecta en la incidencia, esto teniendo en cuenta que niveles altos de NO₂ y SO₂ se correlacionan con un mayor riesgo de CD y CU y que una elevada contaminación se asocia con un aumento de los leucocitos polimorfonucleares circulantes y las citocinas plasmática que influyen en la incidencia de la EII (Zhang & Li, 2014).

3.1.8.2.1 Dieta

Se ha determinado a la dieta como uno de los factores ambientales más críticos en la incidencia de la EII, varios estudios la han asociado con alteraciones en la microbiota intestinal y la integridad de la mucosa. Es así como, fibras vegetales solubles favorecen el mantenimiento de la integridad epitelial y reducen la

translocación de *E. coli* invasivas a través de las células M, lo que podría asociarse con un menor riesgo de EII (De la fuente *et al.*, 2017).

Se ha establecido que la presencia de un deterioro del estado nutricional ejerce un impacto negativo en la evolución de los pacientes, ya que puede condicionar una peor respuesta al tratamiento farmacológico, mayor dificultad en la resolución de las lesiones inflamatorias, así como un incremento del riesgo de infecciones y de la morbimortalidad posquirúrgica. Su frecuencia de presentación no es algo desdeñable, ya que se estima que un 23% de los pacientes con EII que son regularmente seguidos de forma ambulatoria y un 85% de los pacientes hospitalizados presentan deterioro del estado nutricional (Breton y Carbonell, 2016).

3.1.8.3 Consideraciones sobre la microbiota

Estudios realizados han mostrado que al comparar el microbioma fecal de pacientes sanos con el de pacientes que padecen EII, se encuentra una biodiversidad significativamente reducida en el microbioma fecal de pacientes con EII. A su vez, otros estudios han observado que, en el intestino sano, la microbiota se encuentra predominada por los Firmicutes y Bacteroidetes phyla que contribuyen a la producción de sustratos metabólicos epiteliales, mientras que, por el contrario, la microbiota en pacientes con EC se caracteriza por una relativa falta de Firmicutes y Bacteroidetes, y una sobrerrepresentación de enterobacterias; mientras tanto, se observa una reducción en el número de *Clostridium* spp. y se ha notificado un aumento de *Escherichia coli* (*E. coli*) en la CU (Zhang & Li, 2014).

3.1.8.4 Consideraciones de la respuesta inmune

3.1.8.4.1 Sistema inmune intestinal

Cuando el organismo está en condiciones normales, el sistema inmune intestinal presenta respuestas inmunitarias inhibidas frente a los contenidos lumbinales, debido a la tolerancia oral. Siendo el proceso de tolerancia el que implica mecanismos del epitelio intestinal, sistema innato y adaptativo. Mientras que en personas que

presentan EII, el estado de supresión o tolerancia se encuentra alterado, desencadenando una respuesta inmune exacerbada que conlleva a la inflamación crónica (Kasper *et al.*, 2015).

3.1.8.4.1.1 Defectos de la regulación inmunitaria en la enfermedad inflamatoria intestinal

La investigación de la patogénesis de la EII ha estado dominada durante mucho tiempo por los estudios de la inmunidad de la mucosa, especialmente la respuesta de las células T. La evidencia disponible sugiere que las disfunciones de las vías inmunes innatas y adaptativas contribuyen a la respuesta inflamatoria intestinal aberrante en pacientes con EII (Zhang & Li, 2014).

- **Respuesta inmune innata**

El sistema inmune innato, se caracteriza por ser la primera línea de defensa, por lo cual tiene la tarea de realizar respuestas rápidas y eficientes frente a los patógenos. Dichas respuestas son posibles, gracias a las barreras físicas, las barreras químicas y los componentes celulares y moleculares propios del sistema inmune. Encontrándose dentro de los componentes celulares los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos y mastocitos), los monocitos y macrófagos, las células dendríticas y de Langerhans y las células citotóxicas naturales (generalmente llamadas naturales asesinas o natural killer -NK-). Por otro lado, los componentes moleculares están representados principalmente por el complemento, las citocinas y las proteínas de fase aguda (Montserrat Sanz *et al.*, 2017).

Dentro de las enzimas que se encuentran sobreexpresadas en la EII, se encuentra la mieloperoxidasa (MPO), que es una enzima considerada como hemoproteína y que se encuentra almacenada en los neutrófilos activados, monocitos y macrófagos. Es una enzima ligada a la inflamación y al estrés oxidativo (Carreño *et al.*, 2017). Como la inflamación, conlleva a un aumento de la expresión de neutrófilos, la MPO también aumenta consecuentemente en estos procesos, conllevando a aumento de

especies reactivas de oxígeno, por lo que se utiliza como un marcador bioquímico del estado oxidativo e inflamatorio colónico en la EII (Nogales, 2015).

Las células inmunes del sistema innato, como las células dendríticas (DC) y los macrófagos, pero también las células epiteliales intestinales y los miofibroblastos, pueden detectar la microbiota intestinal y responder a motivos estructurales conservados en microorganismos, conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), en una manera estereotípica (Figura 1), lo cual permite el inicio de respuestas inflamatorias rápida (Geremia *et al.*, 2014).

En lo que respecta a la barrera epitelial, se ha determinado que en pacientes con EII, se ha observado que se presenta un debilitamiento en la rigidez de las paredes de mucina, en los cuales se ha visto una expresión reducida de ARNm de MUC1 en el íleon inflamado de pacientes con EC y MUC3,4 y MUC5B en el íleon no inflamado en comparación con los controles (Geremia *et al.*, 2014).

En la EII la expresión de TLR4 se incrementa significativamente en células epiteliales intestinales y en células dendríticas. Esto conlleva a un incremento en la secreción de TNF, IL-1 β e IL-6, lo que resulta en la activación de NF- κ B, STAT- 1, MAPKs y PPAR; produciendo efectos pro y antiinflamatorios. Lo cual también afecta a la barrera intestinal (Pinto *et al.*, 2010).

Estudios recientes han encontrado que el comportamiento de las células que median la inmunidad innata y la expresión y función tanto de los TLR como de las proteínas NOD se alteran significativamente en individuos con EII, en estos se revela que las mutaciones NOD2 más comúnmente asociadas con CD inducen una capacidad defectuosa del intestino para responder al LPS, y este defecto puede contribuir a la susceptibilidad a la enfermedad. De este modo la evidencia disponible sugiere que representan mutaciones con pérdida de función que conducen a una activación reducida de NF- κ B (Zhang & Li, 2014).

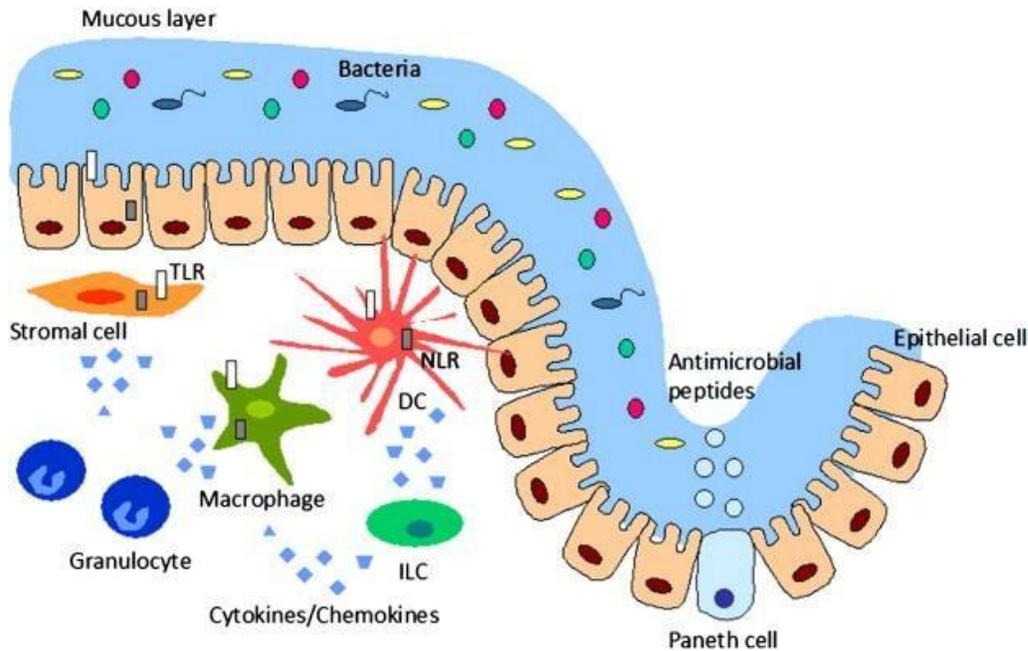


Figura 1. Respuesta inmune innata en el intestino. La capa mucosa y la barrera epitelial representan la primera línea de defensa contra la invasión bacteriana. Las células de Paneth y otras células epiteliales secretan péptidos antimicrobianos que contribuyen a limitar el crecimiento bacteriano y la invasión. Las células epiteliales, las células del estroma y las células inmunitarias innatas, como los macrófagos y las células dendríticas (DC) pueden detectar las bacterias invasoras a través de receptores de reconocimiento de patrones extracelulares e intracelulares (receptores Toll-TLR y receptores tipo NOD - NLR) e inician respuestas inflamatorias rápidas mediado por la secreción de citocinas y quimiocinas y el reclutamiento de células inflamatorias. Las células linfoides innatas (ILC) también se encuentran en la lámina propia humana, donde pueden contribuir a la producción de citocinas y al reclutamiento de células inflamatorias. Geremia *et al.*, 2014.

Por otro lado, la IL-23 ha demostrado ser una citoquina que juega un papel clave en la inmunidad innata, puesto que se ha observado que juega un papel en la inducción de las citocinas Th17 que son claves en la EC. A su vez, se ha determinado que los polimorfos IL23R se han asociado con EC y CU, sugiriendo que IL-23 puede representar una molécula inflamatoria compartida en la inflamación intestinal crónica (Takatori *et al.*, 2009).

La EC también se ha asociado con ATG16L1 y genes IRGM, que están involucrados en la autofagia. Lo cual se ha asociado con mutaciones en NOD2 o ATG16L1. Siendo esta respuesta una inductora de la muerte apoptótica y causante de la EII (Zhang & Li, 2014).

- **Respuesta inmune adaptativa**

La inmunidad adaptativa es altamente específica, trabaja con la memoria inmunológica y depende del tipo y número de células T. Las células Th1, inducidas por IL-12, producen una gran cantidad de IFN- γ , mientras que las células Th2 liberan IL-4, IL-5 e IL-13. Se cree que una respuesta inmune Th1 anormal causa inflamación intestinal en la EC, y se ha observado que las células T mucosas de pacientes con EC producen mayores cantidades de IL-2 e IFN- γ que las células T de los pacientes con CU o los controles. También se ha demostrado que, en la CU, las células NK atípicas liberan cantidades más altas de la citoquina Th2 IL-13 que las células T de los controles o pacientes con EC. Por lo tanto, se ha pensado que la EC se caracteriza por una respuesta inmune Th1, mientras que la CU se ha considerado como una enfermedad mediada por Th2 (Zhang & Li, 2014).

Por otro lado, Las células Th17 son un subconjunto de células T caracterizado por la producción de grandes cantidades de IL-17A, IL-17F, IL-21 e IL-22. Las células Th17 son inducidas por una combinación de IL-6 y factor de crecimiento transformante (TGF) - β , y su expansión es promovida por IL-23. La IL-21 producida por las células Th17 a su vez aumenta su expresión del receptor de IL-23, por lo tanto, potencia la expansión de este subtipo de células mediante un ciclo de retroalimentación autorregulatorio positivo. Además, se ha identificado otro subtipo de células T, a saber, las células Th1 / Th17, que liberan tanto IFN- γ como IL-17A. Se han detectado altos niveles de transcripción de IL-17A tanto en la mucosa en la EC como en la UC en comparación con el intestino normal, y se ha observado mediante inmunohistoquímica que IL-17A está sobreexpresado en la lámina propia de pacientes con EI (Geremia *et al.*, 2014).

3.2 *Physalis peruviana* L.

La *Physalis peruviana* L., también conocida como uchuva en Colombia, uvilla en Ecuador, aguaymanto en Perú, topotopo en Venezuela y goldenberry en países de habla inglesa; tiene como nombre botánico *Physalis peruviana* Linnaeus, pertenece

a la familia Solanaceae y al género *Physalis*. La *P. peruviana* L. es una planta herbácea, semi-arbustiva, erecta y perenne en zonas subtropicales, puede crecer hasta alcanzar 0.6 o 0.9 m o incluso hasta 1.8 m. Entre las partes de esta planta están: las hojas, el tallo, la flor; la cual es fácilmente polinizable, y la fruta, que es una baya jugosa con forma ovoide y un diámetro entre 1.25 a 2.50 cm, 4 y 10 g peso (Puente *et al.*, 2011).

3.2.1 Uchuva (fruto)

El fruto de la planta *Physalis peruviana* L., ha sido usado como fuente de provitamina A, minerales, vitamina C y complejo vitamínico B. Contiene 15% de sólidos solubles (principalmente azúcares), presenta un alto nivel de fructosa, lo cual la hace valioso para los diabéticos; además contiene; fósforo, calcio, hierro, ácido ascórbico, hidratos de carbono, y un alto contenido de fibra dietética, que le permite actuar como regulador intestinal (Ramadan, 2011).

3.3 MODELOS ANIMALES PARA EVALUAR EII

Los estudios realizados en modelos animales para evaluar la Enfermedad Inflamatoria Intestinal han sido usados desde la década de los 80 en estudios de la fisiopatología de dicha enfermedad. Este tipo de estudios experimentales inicialmente eran realizados en gusanos, como el *Caenorhabditis elegans*, sin embargo, por su falta de compatibilidad con los sistemas inmunes y circulatorios de los humanos, se empezaron a usar los roedores, los cuales si presentan compatibilidad, ya que, presentan en su epitelio intestinal los mismos cuatro tipos de células que los humanos: enterocito, cáliz, paneth y enteroendocrino (Lin & Hackam, 2011).

Entre las diferentes sustancias usadas en los estudios en modelos de animales se encuentran: agentes químicos, polisacáridos sulfatados e inmunocomplejos microbianos. En general estos modelos son influenciados por la flora bacteriana intestinal, suelen ser reproducibles en ratas y ratones, y además son fáciles de manipular (Mañé, 2007).

3.3.1 Modelos químicos para evaluar EII

Los modelos químicos se basan básicamente en la exposición de la mucosa del colon a un irritante químico, que sea capaz de producir una colitis difusa (Aceituno & Panés, 2005). Estos modelos son bastante usados en la actualidad, debido que son relativamente económicos, fáciles de usar y reproducibles; razón por la cual han permitido que se tengan conocimientos de esta enfermedad en los seres humanos (Mañé, 2007).

Entre los modelos animales usados para evaluar la enfermedad inflamatoria intestinal encontramos: el modelo inducido por DSS, el modelo inducido por oxazolona, el modelo inducido por iodacetamida, el modelo inducido por indometacina, el modelo inducido por polisacárido-péptidoglicano, el modelo inducido por ácido acético, el modelo inducido por TNBS.

3.3.1.1 Modelo inducido por DSS

En este modelo se induce la inflamación, administrando el sulfato de dextrano sódico (DSS) disuelto en el agua para beber. La lesión generada afecta la mucosa y submucosa intestinal, debido a que el DSS presenta una gran capacidad citotóxica sobre las células epiteliales intestinales y los macrófagos, y además aumenta las bacterias anaeróbicas gram-negativas. En dicha lesión se produce diarrea líquida, úlceras e infiltrado inflamatorio agudo y crónico en el segmento de colon afectado (Mañé, 2007; Aceituno & Panés, 2005).

Cuando se administra el DSS de forma continua, se desarrolla una colitis crónica que puede prolongarse varias semanas después del cese de la administración; las lesiones crónicas producidas tienen la presencia de folículos linfoides y de displasia epitelial. En las fases más avanzadas, los animales tratados con DSS muestran una elevada incidencia de cáncer colónico (Mañé, 2007).

Al usar este método a nivel macroscópico se aprecia un engrosamiento de la pared y un acortamiento de la longitud del colon, al realizar la observación histológica, se observa un infiltrado celular inflamatorio de células plasmáticas y linfocitos, una

alteración de la morfología de los macrófagos de la mucosa y submucosa, y la aparición de cambios regenerativos del epitelio del colon (Aceituno & Panés, 2005).

4. METODOLOGÍA

4.1 Recolección e identificación taxonómica del material vegetal

El fruto de *Physalis peruviana* L. se recolectó en el municipio de Fusagasugá, departamento de Cundinamarca, Colombia (4°20'14"N 74°21'52"O, elevación 1765 m.s.n.m.) y fue enviada al herbario de la Universidad de Antioquia, donde se autenticó e identificó taxonómicamente (**Anexo N°1**).

4.2 Caracterización fisicoquímica de la fruta

Para la caracterización fisicoquímica de la fruta, se prepararon 3 muestras independientes. A cada muestra se le determinó sólidos soluble (°Brix), pH y acidez titulable por triplicado. Para los sólidos solubles se empleó un refractómetro digital (SPER SCIENTIFIC 300034) y para la medida del pH, se usó un medidor de pH (OHAUS® STARTER 3100). La acidez titulable se determinó mediante una titulación con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N y con una solución alcohólica de fenolftaleína al 1% como indicador; dichos resultados se reportaron en g/100mL de ácido cítrico. Estos métodos se desarrollaron de acuerdo con los lineamientos de la AOAC para el análisis de alimentos (Licodiedoff; *et al.* 2013).

4.3 Preparación del extracto total etanólico

Los frutos fueron secados por liofilización y molidos con el fin de someterse a extracción por maceración con etanol al 96% a temperatura ambiente. Posteriormente el extracto se filtró y se concentró con un rotavaporador (R-3 BUCHI) a condiciones de temperatura controlada (40°C) y presión reducida. Una vez obtenido el extracto este se almacenó a -20°C hasta su respectivo uso.

4.4 Caracterización fitoquímica de la fruta

4.4.1 Tamizaje preliminar fitoquímico

En la caracterización del extracto total etanólico, se realizó un tamizaje preliminar

fitoquímico al extracto obtenido de la fruta siguiendo la metodología planteada por Sanabria-Galindo, *et al.* (1997) y Aiyegoro y Okoh (2010), en la que se determinó cualitativamente y con ensayos por triplicado, si el extracto contaba con presencia abundante (+++), presencia moderada (++) , presencia leve (+) o no detectado (-) de los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, cumarinas, taninos, cardiotónicos, flavonoides, saponinas, terpenos, quinonas y compuestos fenólicos.

4.4.2 Cuantificación fenoles totales

Para la cuantificación de compuestos fenólicos se empleó el método de Folin-Ciocalteu, siguiendo la metodología expuesta por Del Toro Sánchez, *et al.* (2014). En resumen, a 30 μL del extracto se le adiciono 150 μL de Folin-Ciocalteu a una concentración de 0.1 M, luego de 10 minutos se añadió 120 μL de una solución de Carbonato de Sodio al 7.5%. La mezcla se incubo a temperatura ambiente durante 2 horas, posteriormente se procedió a realizar la cuantificación espectrofotométricamente en un lector de microplacas (Thermo Scientific Multiskan EX) a 760 nm. La concentración fenólica se determinó teniendo como patrón de referencia el Ácido Gálico, por lo que los resultados se expresaron como mg de ácido gálico por gramos de extracto seco.

4.4.3 Cuantificación de flavonoides

Para cuantificar el contenido de flavonoides se realizó el método de tricloruro de aluminio, siguiendo el procedimiento expuesto por Chang *et al.* (2002). En este ensayo se mezclaron 100 μL del extracto con 100 μL de la solución Nitrito de Sodio (NaNO_2) al 1.5%, la mezcla se agitó por 10 minutos a temperatura ambiente. Se tomaron 50 μL de la mezcla, se adicionaron 50 μL de Tricloruro de Aluminio (AlCl_3) al 3% y se sembraron en una placa de 96 pozos, la cual se incubó con agitación durante 3 minutos en el lector de microplacas, luego se adicionaron 50 μL de una solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) 1 N y se agito nuevamente durante 6 minutos, realizado esto, se leyó la absorbancia en lector de microplacas (Thermo Scientific Multiskan EX) a 450 nm. La concentración de flavonoides se determinó

teniendo como patrón de referencia Catequina o Quercetina, por lo que los resultados fueron expresados como mg de Catequina o Quercetina por gramos de extracto seco.

4.5 Material biológico

Se obtuvieron ratones BALB/c hembras, con 10 semanas de edad; las cuales fueron suministradas por parte del Instituto Nacional de Salud (INS). Una vez adquiridos, se mantuvieron en el Bioterio del campus de la salud de la Universidad de Cartagena, en un ambiente libre de estrés, en cajas de policarbonato con filtro y condiciones controladas de temperatura y humedad relativa ($22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y $70\% \pm 5\%$), bajo ciclos de 12 horas de luz y oscuridad. Se les proveyó de alimentos y agua *ad libitum*. Todos los experimentos fueron diseñados y conducidos de acuerdo con los lineamientos del Comité de Ética de la Universidad de Cartagena (**Anexo N°2**).

4.6 Preparación de la dieta suplementada con extracto de uchuva

4.6.1 Preparación del alimento

La preparación del alimento se realizó con comida LabDiet 5010, la cual fue pulverizada y pasada por un tamiz número 20, posteriormente, el alimento pulverizado se aglutinó con solución de almidón de maíz al 5 %, a la cual se le había incorporado la cantidad de extracto de acuerdo con el porcentaje correspondiente de suplemento (0,15 % y 0,3 %). Luego de aglutinar el alimento, este se moldeó en pequeños pellets y se procedió a secar en un horno a 40°C durante 7 horas aproximadamente. Una vez preparado el alimento, se empacó en bolsas al vacío y se almacenó a -20°C hasta su respectivo uso.

4.6.2 Determinación de los porcentajes a los cuales la comida fue suplementada con el extracto

Con el fin de determinar la cantidad de extracto a incorporar en los alimentos suplementados, se tuvo en cuenta la recomendación por parte de la OMS que indica que una persona promedio de 70 Kg debe consumir aproximadamente 400 g de

frutas y verduras al día. Por tanto, se decidió suplementar la comida a 0.15 y 0.3% de extracto. Lo que equivale en la dieta de un ratón BALB/c a un consumo aproximado de 200 y 400 g de pulpa de fruta en un individuo de 70 Kg de peso.

4.7 Ensayos de toxicidad

4.7.1 Ensayo de toxicidad aguda

El ensayo de toxicidad aguda se realizó en ratones BALB/c hembra y machos, a los cuales se les administró por vía oral una dosis única de 2000mg/kg del extracto de la fruta y se observaron durante 72 horas teniendo en cuenta los criterios establecidos por un test hipocrático (Herrera, 2009) (**Anexo N°3**). El preparado administrado, se realizó adicionando un vehículo de 800 µL de agua estéril, 100 µL de propilenglicol y 100 µL de glicerina a la cantidad de extracto determinada.

4.7.2 Ensayo de Toxicidad Crónica

En el ensayo de toxicidad crónica se usaron ratones BALB/c hembra, las cuales fueron alimentadas con comida suplementada con extracto de la fruta al 0,3% y observadas durante 28 días teniendo en cuenta los criterios de un test hipocrático (Herrera, 2009) (**Anexo N°3**). El último día del ensayo los animales fueron sacrificados y se tomaron muestras de hígado y riñón y se conservaron en formalina tamponada para análisis histopatológico de los tejidos con microscopia óptica y con una escala de valoración libre de sesgos (**Anexos N°4 y 5**).

4.8 Evaluación del efecto modulador anti-inflamatorio del extracto total etanólico del fruto de uchuva empleando un modelo de EII inducido por DSS

Se desarrolló un modelo sub-agudo de EII inducida con DSS al 3% siguiendo el método descrito por Kim *et al.* (2012). El estudio se realizó en 5 grupos de 7 ratones durante 30 días. El grupo I correspondió al control sano a los cuales no se les administró la solución de DSS, mientras que en los grupos II, III y IV se empleó el modelo de EII durante los últimos 10 días; en el grupo II no se suministró comida

suplementada, entretanto, a los grupos III y IV se les suministró comida suplementada al 0,15 y 0,3% respectivamente; mientras que el grupo V se le suministro alimento al 0,3%. Durante los 30 días se realizó seguimiento de variación de peso (**Anexo N°6**) y al inducir la enfermedad se midió la consistencia de las heces y el sangrado fecal, con el fin de determinar el índice de actividad de enfermedad, siguiendo los parámetros de un sistema de puntuación (Li *et al.*, 2014) (**Anexo N°7**). Una vez terminados los 30 días del ensayo los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical y se extrajo un segmento del intestino grueso que va aproximadamente desde el ciego hasta el recto y se almacenaron secciones de 1 cm² de colón que fueron conservadas en formalina tamponada.

4.9 Evaluación macroscópica y análisis histológico.

La evaluación del daño macroscópico en el colón se evaluó midiendo el peso y largo del colon de cada ratón de los 4 grupos del ensayo. Por otra parte, en el análisis histológico, se tomó una muestra del tejido de colon en formalina tamponada que se incrusto en parafina, se cortó en secciones de 5 µm y se tiño con hematoxilina y eosina (H&E) y ácido peryódico-Schiff (PAS) para el análisis histopatológico (Murugan *et al.*, 2017). Dichos cortes fueron analizados bajo microscopia óptica y con una escala de valoración libre de sesgos (**Anexo N°8**) por una patóloga.

4.10 Análisis estadístico

Los resultados correspondientes al ensayo fueron expresados como el promedio ± E.E.M y analizados mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de Tukey post hoc para comparaciones múltiples.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Identificación taxonómica del material vegetal

La identificación taxonómica de la muestra de material vegetal enviado al Herbario de la Universidad de Antioquia confirmó que el material enviado correspondía al fruto de la especie de *Physalis peruviana* L., la cual se identificó con el Voucher 199086 (**Anexo N°1**).

5.2 Caracterización fisicoquímica de la fruta

Los resultados de la caracterización fisicoquímica del fruto se encuentran expresados como el promedio \pm E.E.M. ($n = 9$) en la **Tabla 1**. Los parámetros fisicoquímicos establecidos en dicha caracterización permiten estimar que los resultados obtenidos en esta investigación se encuentran condicionados por los valores reflejados, los cuales, al ser comparados con la norma técnica colombiana NTC 4580, permiten inferir que el fruto usado en esta investigación corresponde a una madurez grado cuatro que hace referencia a un fruto de color anaranjado claro (Norma técnica Colombiana NTC 4580, 1999).

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos determinados en el fruto de Uchuva.

Sólidos Solubles (°Brix)	14,20 \pm 0,06
pH	3,52 \pm 0,006
Acidez titulable (g/100MI)	2,15 \pm 0,01

En otro estudio en el que se realizó caracterización fisicoquímica de la uchuva se determinó que el material vegetal que estos usaron tenía un pH de 3,7 y una acidez titulable de 2 e indicaron que dichos valores no se encuentran alejados de los valores del ecotipo usado para exportar, en el cual el pH es 3,4 y la acidez titulable es de 1,6. Al comparar dichos valores con los del presente estudio, es válido afirmar que el fruto usado en este estudio cuenta con las condiciones óptimas y semejantes a las establecidas para la comercialización y consumo (Mendoza & Rodríguez, 2012).

5.3 Preparación del extracto total etanólico

Al realizar el secado de la pulpa de la fruta por liofilización se obtuvo un rendimiento de fruta deshidratada de 18,08%. En lo que respecta al rendimiento referente a la extracción por maceración de la pulpa de fruta deshidratada el porcentaje fue de 44,70%.

5.4 Caracterización fitoquímica de la fruta

Los resultados de la caracterización fitoquímica del extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana* L., demostraron la presencia abundante de cumarinas, presencia moderada de glucósidos cardiotónicos y presencia leve de compuestos fenólicos. Hallazgo coherente con lo reportado por Rutz *et al.*, 2012. Adicionalmente no se observó presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, quinonas, saponinas, taninos, triterpenos y esteroides.

En relación con la cuantificación de compuestos fenólicos, se encontró que el extracto de fruta de *Physalis peruviana* L., tiene $0,53 \pm 0,011$ mg de ácido gálico/g de pulpa de fruta; en cuanto al contenido de flavonoides, la cantidad determinada por el método de tricloruro de aluminio fue nula. La ausencia de flavonoides es coherente con los resultados obtenidos en el tamizaje preliminar fitoquímico.

En dos estudios realizados previamente por Restrepo (2008) y por Botero (2008), se encontró que la fruta presentaba una alta cantidad de compuestos fenólicos, los cuales, fueron de $0,4045 \pm 0.93$ mg de ácido gálico / g de muestra y $0,3915 \pm 5.43$ mg de ácido gálico / g de muestra, respectivamente en cada estudio. Al comparar dichos valores, con los obtenidos en el proyecto, se pudo apreciar que había similitud entre los resultados.

5.5 Ensayos de toxicidad

5.5.1 Ensayo de Toxicidad Aguda

Una vez realizada la caracterización fitoquímica se procedió a evaluar la toxicidad del extracto. Primeramente, en la toxicidad aguda, se evaluó los posibles efectos a una dosis de 2000 mg/Kg administrada una sola vez por vía oral, en esta evaluación, los animales fueron observados durante 72 horas, teniendo en cuenta los parámetros establecidos por el test hipocrático (Herrera, 2009), el cual permitió apreciar que durante dicho tiempo no se presentaron signos de toxicidad en ninguno de los animales.

5.5.2 Ensayo de Toxicidad Crónica

Posterior a la evaluación de toxicidad aguda, se evaluó si al administrarse el alimento suplementado al 0,3% habría efectos tóxicos. Para ello, los animales se observaron diariamente durante 28 días, siguiendo los criterios establecidos por el test hipocrático (Herrera, 2009); el cual permitió inferir que durante dicho tiempo no hubo signos de toxicidad en los ratones a los que se les suministro el alimento suplementado con el extracto al 0,3%.

Con el fin de seguir investigando acerca de la toxicidad del extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana* L., se tomaron muestras de hígado y riñón de los ratones y se les realizó un análisis histopatológico; el cual reveló, que, en el tejido hepático, no se presentó inflamación, necrosis, apoptosis, lesiones hepatocelulares, cambios regenerativos, congestión vascular ni neoplasia (**Figura 2**). Y que en el tejido renal no había presencia de edema, tubulitis, necrosis tubular aguda, distalizacion, fibrosis, infiltrado intersticial ni congestión vascular (**Figura 3**). Estos parámetros fueron medidos utilizando una escala de 1-3, que fue diseñada por el patólogo, donde: 0, ninguno; 1, leve; 2, moderado y 3, severo.

Los hallazgos histológicos mencionados, indican que el extracto de *Physalis peruviana* a dosis iguales e inferiores a 0,3% no produce toxicidad renal ni hepática, lo que es evidente al compararlo con el grupo sano, con el cual no tienen una diferencia significativa.

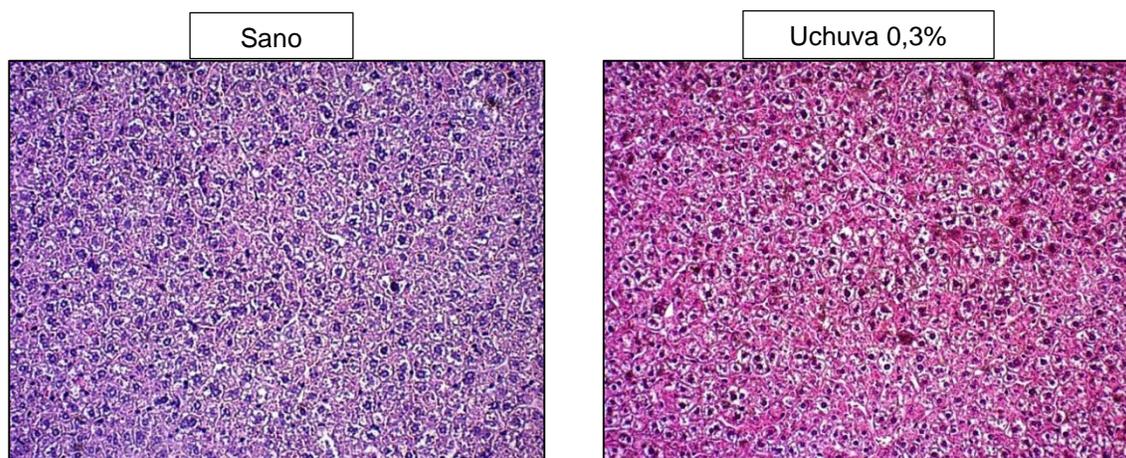


Figura 2. Análisis histológico de tejido hepático de ratones tratados con extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana*, calificado por un patólogo. Ampliación original 20X. Los resultados representan la media \pm E.E.M. (n = 7).

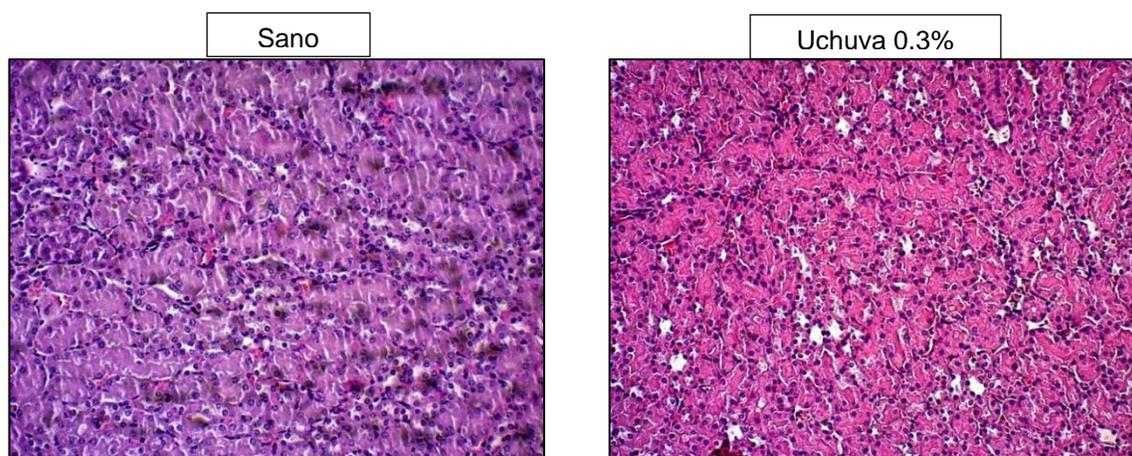


Figura 3. Análisis histológico de tejido de riñón de ratones tratados con extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana*, calificado por un patólogo. Ampliación original 20X. Los resultados representan la media \pm E.E.M. (n = 7).

Al comprobarse que no habría efectos tóxicos al administrar alimento suplementado con extracto al 0,3%, se procedió a evaluar el efecto modulador anti-inflamatorio en el modelo establecido.

5.6 Evaluación del efecto modulador anti-inflamatorio del extracto total etanólico del fruto de uchuva empleando el modelo de EII inducido por DSS

En primera instancia se tuvo en cuenta que, la enfermedad inflamatoria intestinal se caracteriza por generar pérdida de peso tanto en los individuos que padecen la enfermedad como en animales a los cuales se les induce químicamente con agentes como el DSS (Dopp, s.f.), por lo cual se evaluó la variación de peso en los ratones durante los 30 días del ensayo, dicha evaluación se realizó comparando el peso de los ratones durante los días del ensayo con respecto al peso que tenían al momento de iniciar el estudio, obteniéndose los resultados expresados en la **Figura 4**.

Estos resultados reflejan que mientras el grupo I correspondiente al control sano mostró un aumento de peso, en los grupos que se indujo la EII con DSS hubo una disminución de peso consecutiva con los días en los cuales se iban enfermando. También cabe destacar que en los grupos que se suministró alimento suplementado al 0,15 y al 0,3% con el extracto total etanólico del fruto de uchuva, se pudo observar una menor variación en la disminución del peso corporal de los ratones frente a la disminución que presentaron los animales del grupo enfermo; siendo el grupo con alimento suplementado al 0,15%, en el que se dio menor disminución de la variación del peso.

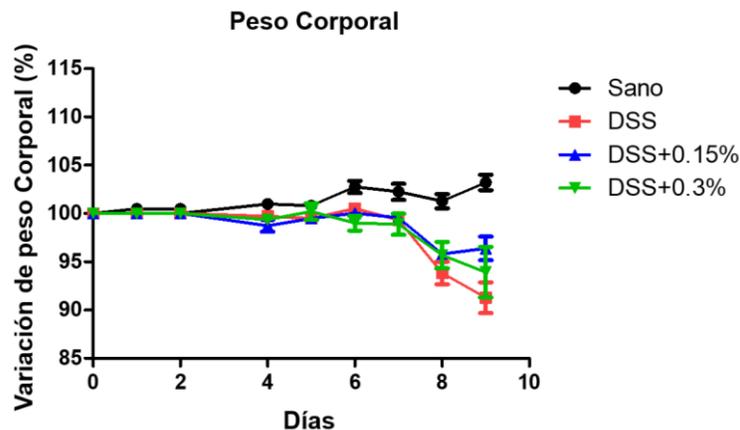


Figura 4. Medida de la variación de peso en los ratones durante los días que se indujo el modelo de EII. Los resultados se representan en porcentaje de la variación de peso (n=7).

Por otro lado, se determinó el índice de actividad de la enfermedad (**Figura 5**), el cual fue dado bajo un puntaje que se calculó de acuerdo con la variación de peso, la consistencia de las heces y el sangrado en heces. Esto teniendo en cuenta que al inducir la EII con DSS, se dan efectos tóxicos en el epitelio del colon que conllevan a ulceración del tejido, pérdida de peso y de apetito y a un posterior cuadro de diarrea y sangrado fecal (Bolívar *et al.*, 2015). Lo anteriormente mencionado se vio reflejado en los ratones, y concuerda con los resultados de la **Figura 5**, en los que se evidencia que el grupo enfermo con DSS obtuvo un mayor puntaje en el índice de actividad de la enfermedad en comparación con los grupos a los que se les suministró la comida suplementada con el extracto, en los cuales se observa que hubo una atenuación de los efectos de la EII. Dicha atenuación se observó más marcada en el grupo con alimento suplementado al 0,15 %, lo cual va en concordancia con los resultados de variación de peso y sugieren que a esta concentración el extracto hubo un mayor efecto modulador.

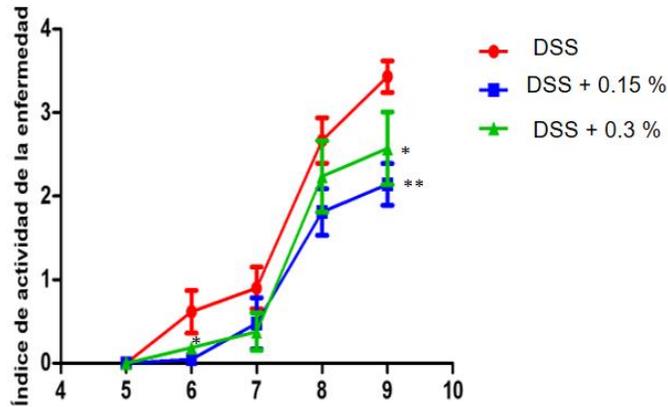


Figura 5. Cambios del índice de actividad de la enfermedad durante los días que se indujo la EII con DSS. Los resultados se encuentran expresados como la media \pm E.E.M. (n=7) (* $p < 0,01$ y ** $p < 0,001$ estadísticamente significativos en comparación con el grupo enfermo con DSS).

De acuerdo a lo revisado en la literatura, no se encontraron otros estudios que evalúen el efecto modulador en la EII por parte del extracto total etanólico del fruto de uchuva, sin embargo, se ha reportado que el fruto de p.p demostró tener un efecto inmunomodulador al inhibirse la producción de citocinas pro-inflamatorias IL-6, 1β y TNF- α en un modelo de hipertensión arterial, lo cual se atribuyó a los metabolitos secundarios con los que cuenta el fruto de esta planta (Mundo Ocampo, 2016). Dicho reporte sirve de base para explicar el resultado observado en este estudio en el que se evidenció la atenuación del índice de actividad de enfermedad inflamatoria intestinal en los ratones a los que se les suministró alimento suplementado con extracto.

5.7 Evaluación macroscópica del colon

Una vez finalizado el ensayo con el modelo de inflamación, se sacrificaron los ratones y se extrajo el colón con el fin de realizar evaluaciones que permitan corroborar el efecto del extracto. Entre estas evaluaciones, se realizó la evaluación macroscópica, la cual se realizó, partiendo de que en la enfermedad inflamatoria intestinal se presentan como características macroscópicas, el engrosamiento de la pared intestinal y el acortamiento en la longitud del colon (Kasper *et al.*, 2016; Mañé, 2007), se evaluaron mediante la observación y medición,

los tejidos colónicos de los diferentes grupos de animales del estudio, como se observa en la **Figura 6**.

Como era de esperarse, el control sano tuvo un aspecto normal y la longitud del tejido colónico fue mayor, mientras que los grupos a los que se les indujo la EII con DSS presentaron un acortamiento en la longitud del colon y cierto grado de engrosamiento de la pared intestinal. Por otro lado, pudo apreciarse que los grupos a los que se les administró el alimento suplementado con el extracto al 0,15 y 0,3%, presentaron una mayor longitud de colon, en comparación con el grupo al que solo se le administro DSS; siendo el grupo con alimento suplementado el que mostró menor acortamiento frente al grupo con alimento al 0,3%, sin embargo, las diferencias no fueron significativas entre ambos grupos, mientras que si lo fueron con respecto al grupo enfermo. Lo anterior, evidenció que el extracto de *Physalis peruviana* L. presento un efecto antiinflamatorio, ya que permitió que el acortamiento del colon se diera en menor medida en los grupos tratados, lo cual indica que hubo menor grado de inflamación.

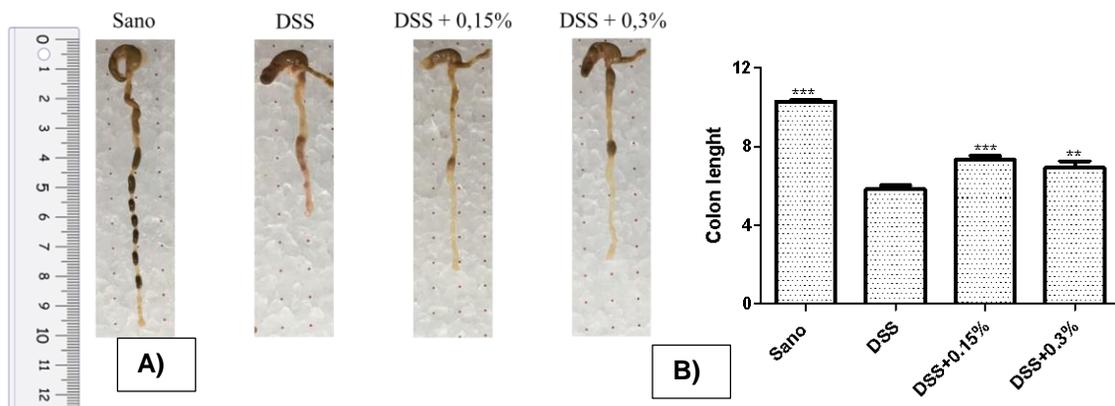


Figura 6. Evaluación macroscópica de los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS. A) Segmentos colónicos de los grupos incluidos en el estudio. B) Longitudes de los tejidos de colon; Los resultados representan la media \pm E.E.M. (** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$ estadísticamente significativos en comparación con el grupo enfermo).

De igual forma, para evaluar el daño macroscópico en los tejidos de colon, se utilizó la relación peso/longitud del colon; la cual indica el grado de daño que se presenta en la mucosa intestinal (Anand & Sunita, 2008).

En la **Figura 7**, se encuentran expresados los valores dados por dicha relación, donde se observa que hay un gran aumento de dicha relación en el grupo que se indujo la EII con DSS, debido a que este agente provocó lesiones que afectaron la mucosa y submucosa intestinal (Mañé, 2007); mientras que en los grupos tratados con el extracto de *Physalis peruviana* L. se redujo el índice, indicando una mejora de la enfermedad inflamatoria intestinal.

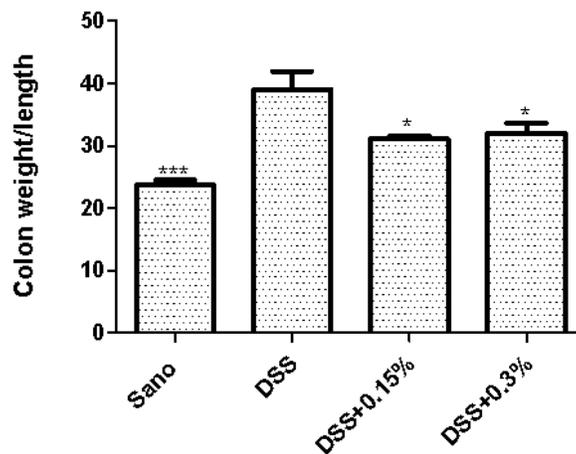


Figura 7. Daño macroscópico de los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS. Los resultados representan la media \pm E.E.M. (* $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$ estadísticamente significativos en comparación con el grupo enfermo).

De acuerdo a lo revisado en la literatura, no se han reportado estudios en los que se relacionen las características macroscópicas con el efecto antiinflamatorio del extracto total etanólico del fruto de *Physalis peruviana* L., sin embargo, si se encontró un estudio en el cual se demostró que el extracto total etéreo de los cálices de *P. peruviana* L., si presentan un efecto antiinflamatorio, debido a que disminuyen el daño de la mucosa intestinal, la presencia de úlceras, el engrosamiento y la relación peso/longitud del tejido colónico con EII (Castro *et al.*, 2013).

5.8 Evaluación histopatológica del tejido colónico

Partiendo que, en la enfermedad inflamatoria intestinal puede presentarse ulceración, inflamación, edemas, hemorragia, fibrosis e infiltración de neutrófilos en la capa mucosa, alteraciones en la capa submucosa y en la muscular (Kasper *et al.*, 2015); se evaluaron las muestras de tejido colónico usando la tinción de H&E; la cual proporcionó una visión más detallada del tejido colónico y permitió evidenciar anomalías o cambios en las células (Santos, 2017), tal como se aprecia en la **Figura 8**.

Como era de esperarse el grupo sano y el que se le administro el alimento suplementado al 0,3%, se encontraron en condiciones normales y sin ningún tipo de cambio en las células; mientras que los grupos en que se indujo la EII pudo apreciarse, ulceración, edema, fibrosis, inflamación, infiltración de neutrófilos y un aumento en el grosor de la capa submucosa y la capa muscular; sin embargo es importante destacar que el grupo tratado con el alimento suplementado al 0,15% a pesar de presentar cambios en sus células, restauró el tejido colónico y redujo la infiltración de los neutrófilos.

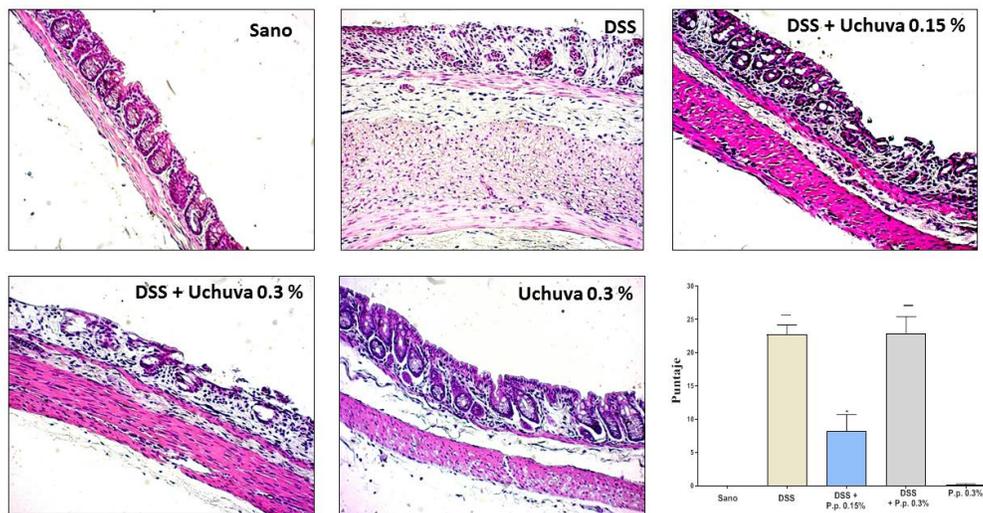


Figura 8. Análisis histopatológico usando la tinción de H&E en los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS, calificado por un patólogo. Ampliación original 20X. Los resultados representan la media \pm E.E.M. ($n = 7$) (* $p < 0,01$ y **** $p < 0,0001$ estadísticamente significativos en comparación con el grupo sano).

Un estudio realizado por Rivera *et al.*, revelo que los glucósidos presentes en el extracto etanólico de cálices de *Physalis angulata* L. y sus fracciones, redujeron el daño tisular, restauraron la arquitectura del tejido y disminuyeron el edema y la infiltración celular en orejas inflamadas con 12-O-tetradecanoil-forbol-13 acetato (Rivera *et al.*, 2018); dicha mejora de las características histológicas, se dio de forma similar a las del extracto total etanólico de *Physalis peruviana* L en el tejido del colon.

A su vez, teniendo en cuenta que, en la enfermedad inflamatoria intestinal se presenta disminución de las células caliciformes intestinales (Gassull *et al.*, 2007); se realizó la evaluación histológica de las muestras de tejido colónico utilizando la tinción de PAS; la cual evidenció la presencia de dichas células caliciformes (productoras de moco), debido a que las tiñó de color rojo (Hajar *et al.*, 2013), como se aprecia en la **Figura 9**.

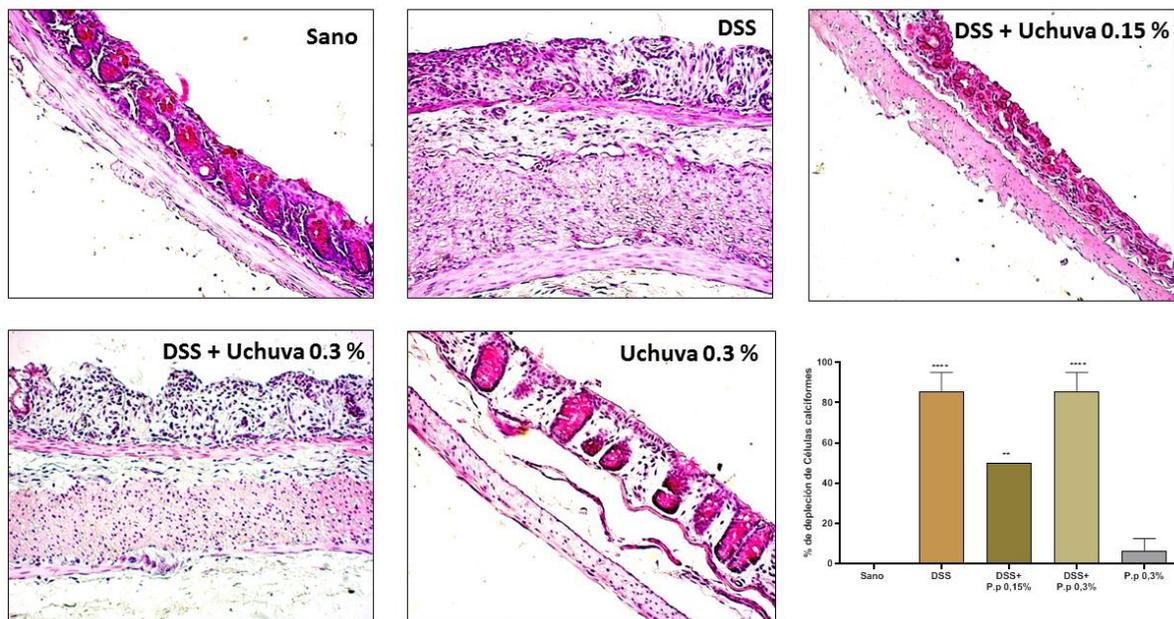


Figura 9. Análisis histopatológico usando la tinción de PAS en los tejidos de colon obtenidos de ratones BALB/c con colitis inducida con DSS, calificado por un patólogo. Ampliación original 20X. Los resultados representan la media \pm E.E.M. (n = 7). (* p <0,001 y **** p <0,0001 estadísticamente significativos en comparación con el grupo sano).

Como era de esperarse, en el grupo sano no hubo depleción de células caliciformes; mientras que en los grupos restantes si se dio cierto porcentaje de depleción de dichas células. En el caso del grupo tratado con el alimento suplementado al 0,15% pudo apreciarse que este a pesar de presentar depleción de células caliciformes, estas, fueron inferiores a las presentadas en los animales enfermos que recibieron el alimento suplementado al 0,3% y los animales con DSS, los cuales presentaron diferencias significativas con respecto al grupo sano y no presentaron diferencias entre sí. Por otra parte, se observó que el grupo que solo contaba con alimento suplementado al 0,3%, no presentó diferencias significativas con el grupo sano, indicando que el extracto no es responsable de la depleción de las células caliciformes.

Lo anterior corroboró que el extracto de *Physalis peruviana* L. presentó un efecto antiinflamatorio, debido a que, aumento la cantidad de células caliciformes, las cuales son importantes porque protegen el intestino del daño mecánico, de los efectos nocivos del ácido estomacal (el moco mantiene separados a los ácidos y las enzimas del tejido intestinal), de las bacterias y de los virus patógenos (Quigley, 2001). Y además disminuyó el grado de inflamación de la capa submucosa y la capa muscular, se dio restauración del tejido y se redujo la infiltración de neutrófilos.

Una vez realizadas todas las evaluaciones de este trabajo, se logra apreciar que hubo una modulación de los efectos de la EII, especialmente en el grupo de animales que recibió alimento suplementado al 0,15% de extracto total etanólico, esto se puede justificar teniendo en cuenta los metabolitos determinados en la caracterización fitoquímica de este trabajo; en la cual se encontró la presencia de fenoles, que según Ramadan (2011) y Ochoa & Saint (2017), son compuestos bioactivos, que al estar presentes en el fruto son los responsables de las propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias, anti-hepatotóxicas y anti-hepatomas del fruto de *Physalis peruviana* L. (Ramadan, 2011; Ochoa & Saint, 2017).

Por otro lado, en este estudio también se logró determinar la presencia de cumarinas en el extracto total etanólico, metabolito que según lo reportado en la literatura se encuentra presente en plantas a las cuales se les ha atribuido y

demostrado el efecto antiinflamatorio, como lo son el caso de *Solanum nigrum* L. (Chang *et al.*,2013) y de *Annona squamosa* L. (Gómez *et al.*, 2011). De igual forma, se encontró un estudio con extracto total etanólico de uchuva en un modelo de actividad antihipertensiva donde señalan la presencia de cumarinas que podrían estar relacionadas con el efecto hipotensor observado (Martínez Gómez, 2015).

Por otra parte, a pesar de que en este estudio no se determinó la presencia de withanolidos, se encontró en la literatura un estudio en el cual se aislaron diferentes withanolidos de un extracto de uchuva y los cuales fueron evaluados, demostrando tener efectos anti-inflamatorios y anticancerígenos (Pezzuto *et al.*, 2016), por lo que es factible atribuir que la presencia de estos metabolitos pudo generar el efecto observado en el presente estudio.

6. CONCLUSIONES

- De acuerdo con la caracterización fisicoquímica realizada, el fruto utilizado en este estudio tiene un grado de maduración cuatro y cuenta con las condiciones óptimas de consumo y comercialización.
- En cuanto a la caracterización fitoquímica, el fruto tiene como metabolitos secundarios cumarinas, compuestos fenólicos y glúcidos cardiotónicos.
- El extracto total etanólico no generó toxicidad aguda al administrarse en una dosis de 2000 mg/Kg y de igual forma no se dieron efectos tóxicos en hígado ni riñón en el modelo de toxicidad crónica con el alimento suplementado al 0.3%.
- El extracto total etanólico demostró tener un efecto atenuante en el índice de actividad de la enfermedad inflamatoria intestinal.
- El extracto total etanólico demostró tener una tendencia a generar un efecto antiinflamatorio al evitar que se diera un gran acortamiento en la longitud y disminuir el daño macroscópico en los ratones con alimento suplementado.
- El extracto total etanólico demostró tener una tendencia a generar un efecto antiinflamatorio en los ratones con alimento suplementado al 0,15% al atenuar la depleción de células productoras de moco a nivel colónico, disminuir el grado de inflamación de la capa submucosa y reducir la infiltración de neutrófilos.

7. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar otras investigaciones con fruto de uchuva bajo otras condiciones fisicoquímicas con el fin de observar si se presentan diferencias significativas en cuanto a la actividad promisorio.
- Se recomienda realizar estudios, en los cuales se utilicen patrones en las pruebas fitoquímicas, para evaluar de forma más exacta y precisa la presencia de los metabolitos secundarios.
- Evaluar los posibles efectos adversos que podrían conllevar el consumir de una forma más prolongada el alimento suplementado con el extracto total etanólico del fruto.
- Realizar un ensayo en un modelo de EII crónico que contemple mayor duración de tiempo.
- Realizar estudios fitoquímicos que permitan aislar e identificar los compuestos a los cuales se debe el efecto antiinflamatorio.
- Se recomienda realizar el ensayo a las mismas concentraciones con el fin de corroborar los resultados observados en este trabajo.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Aceituno, M., & Panés, J. (2005). Patogenia e inmunoterapia de la enfermedad inflamatoria intestinal: lecciones de los modelos animales. *Gastroenterología y hepatología*, 28(9), 576-590.
2. Aguirre, D., Archila, P. E., Carrera, J., Castaño, R., Escobar, C. M., García Duperly, R., & Herrán, M. (2012). Consenso colombiano de enfermedad inflamatoria intestinal. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 27, s1-s44
3. Aiyegoro, O. A., & Okoh, A. I. (2010). Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 21.
4. Álvarez Macías, B. C. (2017). Enfermedad de Crohn. *Revista Salud y Ciencias*, 1(1), 3-4.
5. Anand, P., & Sunita, J. (2008). Papel de la metformina en una enfermedad inflamatoria intestinal inducida experimentalmente.
6. Bolívar, S., Barrientos, E. T., & Motilva, V. (2015). Efectos de un preparado probiótico en un modelo de colitis experimental crónica en ratones, inducida por la ingesta de dextrano sulfato sódico (DSS). *Ciencia e Innovación en Salud*, 3(1).
7. Botero, A. (2008). Aplicación de la ingeniería de matrices en el desarrollo de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mínimamente procesada fortificada con calcio y vitaminas C y E. Medellín (Colombia): Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica y Alimentos.
8. Bretón, I., & Carbonell, C. (2016). Nutrición enteral en el paciente adulto con enfermedad inflamatoria intestinal. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal al Día*, 15(3), 104-111.
9. Caro, D., Ocampo, Y., Castro, J., Barrios, L., Salas, R., & Franco, L. A. (2017). Protective effect of *Dracontium dubium* against *Bothrops asper* venom. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 1105-1114.
10. Carreño, M. R., Benavides, E. R., Peña, C. G., Florentini, A., Fernández, Y., Esquerre, C. G., & Carranza, E. (2017). Asociación de mieloperoxidasa sérica con variables cardiometabólicas en dos poblaciones: Carhuamayo (4100 m-

- Junín) y Mala (30 m-Lima). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(1), 30-39.
11. Castro Guerrero, J. P., Ospina, F., & Alberto, L. (2013). Evaluación in vivo e in vitro del efecto del extracto total etéreo de los cálices de *Physalis peruviana* L. en un modelo de colitis en rata (Doctoral dissertation, Universidad de Cartagena).
 12. Castro, J., Ocampo, Y., & Franco, L. (2015). Cape Gooseberry [*Physalis peruviana* L.] Calyces Ameliorate TNBS Acid-induced Colitis in Rats. *Journal of Crohn's and Colitis*, 9(11), 1004-1015.
 13. Cerón, I., Higuera, J., & Cardona, C. (2010). Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina.
 14. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
 15. Chang, L., Garcia Lopez, A., Rosabal, Y., Espinosa, A., Ramos, M., & Remon, H. (2013). Caracterización fitoquímica y la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de hojas y tallos de *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(4), 30-35.
 16. Chaparro, M., & Gisbert, J. P. (2016). Manifestaciones extraintestinales en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(5), 242-248.
 17. De La Fuente, M., Chahuán, I., Gutiérrez, R., Díaz-Jiménez, D., Olivares, M., Vidal, R., & Hermoso, M. A. (2017). Presencia de *Escherichia coli* intracelular en mucosa intestinal de pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal y su asociación con características clínicas y el uso de corticosteroides. *Revista médica de Chile*, 145(9), 1129-1136.
 18. Del-Toro-Sánchez, C. L., Bautista-Bautista, N., Blasco-Cabal, J. L., Gonzalez-Ávila, M., Gutiérrez-Lomelí, M., & Arriaga-Alba, M. (2014). Antimutagenicity of methanolic extracts from *Anemopsis californica* in relation to their antioxidant activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
 19. Dopp, M. C. (s.f.). TRABAJO FIN DE GRADO Estrategias galénicas en síndromes de malabsorción oral: Evaluación de modelos animales

- experimentales para el abordaje de la malabsorción oral desde un punto de vista biofarmacéutico. Universidad Complutense de Madrid.
20. Gassull, M., Gomollon, F., Obrador, A., & Hinojosa, J. (2007). Enfermedad Inflamatoria Intestinal (3rd ed., pp. 24-25). España: Arán.
 21. Geremia, A., Biancheri, P., Allan, P., Corazza, G. R., & Di Sabatino, A. (2014). Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity reviews*, 13(1), 3-10.
 22. Gómez Estrada, H. A., GONZÁLEZ RUIZ, K. N., & Domingo MEDINA, J. (2011). Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 10(3).
 23. Hajar, T., Kresch, N., Moreno, G., Arenas, R., & Vega, M. (2013). Utilidad de la tinción pas para el diagnóstico histopatológico. *Dermatología Cosmética, Médica Y Quirúrgica*, 11(1), 13-18.
 24. Hashash, J. G., & Hartman, D. J. (2017). Inflammatory cells implicated in neoplasia development in idiopathic inflammatory bowel disease. *Cellular immunology*.
 25. Hernández-Tejero, M., Granja-Navacerrada, A., Bernal-Checa, P., Piqué-Becerra, R., Algaba-García, A., Guerra-Marina, I. & Bermejo, F. (2017). Prevalencia, factores de riesgo y respuesta al tratamiento de las manifestaciones extraintestinales en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 109(9), 627-633.
 26. Herrera Choque, V. C. (2009). Toxicidad de extractos de alcaloides totales de la *Galipea longiflora* Krause Kallun-ki (Evanta) en fase preclínica.
 27. Jostins, L., Ripke, S., Weersma, R. K., Duerr, R. H., McGovern, D. P., Hui, K. Y., & Essers, J. (2012). Host–microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*, 491(7422), 119.
 28. Juliao Baños, F., Ruiz Vélez, M. H., Flórez Arango, J. F., Donado Gómez, J. H., Marín Zuluaga, J. I., Monsalve Arango, C. & Velayos, F. S. (2010). Fenotipo e historia natural de la enfermedad inflamatoria intestinal en un centro de referencia en Medellín-Colombia. *Revista colombiana de Gastroenterología*, 25(3).

29. Kasper, D., Fauci, A., Hauser, S., Longo, D., Jameson, L., & Loscalzo, J. (2015). *Harrison Principios de medicina interna* (19th ed.). México. McGraw-Hill Interamericana.
30. Kasper, D., Hauser, S., Jameson, J., Fauci, A., Longo, D., & Loscalzo, J. (2016). *Principios de medicina interna* (19th ed., pp. 1520-1538). Mexico D.F.: McGraw-Hill Educación.
31. Kim, J. J., Shajib, M. S., Manocha, M. M., Khan, W. I. (2012). Investigating Intestinal Inflammation in DSS-induced Model of IBD. *J. Vis. Exp.* (60), e3678, doi:10.3791/3678
32. Li, L., Wang, L., Wu, Z., Yao, L., Wu, Y., Huang, L., & Gou, D. (2014). Anthocyanin-rich fractions from red raspberries attenuate inflammation in both RAW264. 7 macrophages and a mouse model of colitis. *Scientific reports*, 4, 6234.
33. Lin, J., & Hackam, D. J. (2011). Worms, flies and four-legged friends: the applicability of biological models to the understanding of intestinal inflammatory diseases. *Disease models & mechanisms*, 4(4), 447-456.
34. Mahdi, B. M. (2015). Role of HLA typing on Crohn's disease pathogenesis. *Annals of medicine and surgery*, 4(3), 248-253.
35. Mañé Almero, J. (2007). Modelos experimentales in vivo de enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer colorrectal: Conceptos, modelos actuales y aplicabilidad. *Nutrición hospitalaria*, 22(2), 178-189.
36. Marín, Z. T., Cortés, M., & Montoya, O. I. (2010). Evaluación sensorial de uchuva (*Physalis peruviana* L.) Ecotipo Colombia impregnada con la cepa nativa lactobacillus plantarum lpbm10 y la cepa comercial lactobacillus casei atcc 393. *Vitae*, 17(1).
37. Martínez Gómez, E. (2015). Efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana* L." aguaymanto" Ayacucho-2014.
38. Martínez Gómez, M. J., Melián Fernández, C., & Romeo Donlo, M. (2016). Nutrición en enfermedad inflamatoria intestinal. *Nutrición hospitalaria*, 33, 59- 62.
39. Martínez Gómez. M. (2015). Enfermedad inflamatoria intestinal pediátrica. *PediatríaIntegral*, 119.

40. Medina, E., Fuentes Lugo, D., Suárez Cortina, L., & Prieto Bozano, G. (2009). Enfermedad inflamatoria intestinal. *Protocolo WEB de la AEP de la SEGHN*.
41. Menchén, L. (2016). Fisiopatología y clínica de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Enfermedad inflamatoria intestinal para enfermería*, 3.
42. Mendoza, J. H., & Rodríguez, A. (2012). Caracterización físicoquímica de la Uchuva (*Physalis peruviana*) en la región de Silvia Cauca. *Biotecnología en el sector agropecuario e industrial*, 10(2), 188-196.
43. Meyer, L., Simian, D., Kronberg, U., Estay, C., Lubascher, J., Figueroa, C., & Quera, R. (2015). Desarrollo de neoplasia en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. *Revista médica de Chile*, 143(7), 834-840.
44. Monserrat Sanz, J., Lahoz, A. G., Reina, M. S., & Martín, A. P. (2017). Introducción al sistema inmune. Componentes celulares del sistema inmune innato. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(24), 1369-1378.
45. Mundo Ocampo, E. M. (2016). Efecto inmunomodulador de los frutos de *Physalis peruviana* y del caldo de cultivo de *Ganoderma subamboinenses* en un modelo de hipertensión arterial.
46. Murugan, R., Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2017). Study of intestinal anti-inflammatory activity of Phoenix loureiroi Kunth (Arecaceae) fruit. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 156-164.
47. Múzes, G., Molnár, B., Tulassay, Z., & Sipos, F. (2012). Changes of the cytokine profile in inflammatory bowel diseases. *World journal of gastroenterology: WJG*, 18(41), 5848.
48. Nogales, A. R. (2015). Intestinal anti-inflammatory activity of probiotics in experimental models of colitis: impac of cell viability and role of mirnas (Doctoral dissertation, Universidad de Granada).
49. Norma técnica colombiana NTC 4580 de 1999. Caracterización grados de madurez de la uchuva. ICONTEC.
50. Ochoa, W. F. B., & Saint Germain, I. Q. (2017). Determinación De La Actividad Antioxidante De Los Extractos De Lúcumá, Kiwicha, Achiote, Aguaje Y Aguaimanto Para Valorar Su Viabilidad En Aplicaciones Cosméticas.

51. Oliver Martos, J., & Ibáñez, J. (2008). Nuevos marcadores genéticos de predisposición a la enfermedad inflamatoria intestinal.
52. Orsi, P. R., Seito, L. N., & Di Stasi, L. C. (2014). *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A tropical medicinal plant with intestinal anti-inflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 151(1), 380-385.
53. Owczarek, D., Rodacki, T., Domagała-Rodacka, R., Cibor, D., & Mach, T. (2016). Diet and nutritional factors in inflammatory bowel diseases. *World journal of gastroenterology*, 22(3), 895.
54. Peyrin-Biroulet, L., Bressenot, A., & Kampman, W. (2014). Histologic remission: the ultimate therapeutic goal in ulcerative colitis? *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12(6), 929-934.
55. Pezzuto, J., Sang-ngern, M., & Chee Chang, L. (2016). Poha Berry (*Physalis peruviana*) with Potential Anti-inflammatory and Cancer Prevention Activities. *Hawaii J Med Public Health*, 75(11), 353-359.
56. Pinto, N. B., Morais, T. C., Carvalho, K. M. B., Silva, C. R., Andrade, G. M., Brito, G. A. C. & Santos, F. A. (2010). Topical anti-inflammatory potential of Physalin E from *Physalis angulate* on experimental dermatitis in mice. *Phytomedicine*, 17(10), 740-743.
57. Puente, L. A., Pinto-Muñoz, C. A., Castro, E. S., & Cortés, M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733-1740.
58. Quigley, J. (2001). Intestinal mucin [Ebook] (1st ed., pp. 1-3). Víctor Mireles.
59. Ramadan, M. F. (2011). Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International*, 44(7), 1830-1836.
60. Restrepo, A. (2008). Nuevas perspectivas de consumo de frutas: Uchuva (*Physalis peruviana* L.) y Fresa (*Fragaria vesca* L.) mínimamente procesadas fortificadas con vitamina E. Facultad de Ciencias Agropecuarias, vol. Magíster en ciencia y tecnología de alimentos, 107.

61. Rivera, D. E., Ocampo, Y. C., Castro, J. P., Barrios, L., Diaz, F., & Franco, L. A. (2018). A screening of plants used in Colombian traditional medicine revealed the anti-inflammatory potential of *Physalis angulata* calyces. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
62. Rutz, J. K., Voss, G. B., Jacques, A. C., Pertuzatti, P. B., Barcia, M. T., & Zambiasi, R. C. (2012). Geleia de *Physalis peruviana* L.: Caracterização bioativa, antioxidante e sensorial. *Alimentos e Nutrição*, 23(3), 369-375.
63. Salgado-Boquete, L., Romaní, J., Carrión, L., & Marín-Jiménez, I. (2016). Epidemiología de la hidradenitis supurativa y de la enfermedad inflamatoria intestinal: ¿son enfermedades que se asocian? *Actas DermoSifiliográficas*, 107, 8-12.
64. Sanabria-Galindo, A., López, S. I., & Gualdrón, R. (1997). Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 26(1).
65. Santos, S. (2017). Tinción Hematoxilina-Eosina (Maestria). Universidad Nacional de Educación a Distancia.
66. Shouval, D. S., & Rufo, P. A. (2017). The Role of Environmental Factors in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases: A Review. *JAMA pediatrics*, 171(10), 999-1005.
67. Simian, D., Quijada, M. I., Lubascher, J., Acuña, R., & Quera, R. (2013). Rol de infliximab en enfermedad inflamatoria intestinal: Experiencia local. *Revista médica de Chile*, 141(9), 1158-1165.
68. Takatori, H., Kanno, Y., Watford, W. T., Tato, C. M., Weiss, G., Ivanov, I. I., & O'Shea, J. J. (2009). Lymphoid tissue inducer-like cells are an innate source of IL-17 and IL-22. *Journal of Experimental Medicine*, 206(1), 35-41.
69. Ungaro, R., Mehandru, S., Allen, P., Peyrin-Biroulet, L., & Colombel, J. (2017). Ulcerative colitis. *The Lancet*, 389(10080), 1756-1770.
70. Vegh, Z., Kurti, Z., & Lakatos, P. L. (2017). Epidemiology of inflammatory bowel diseases from west to east. *Journal of digestive diseases*, 18(2), 92-98.
71. WHO. (2018). Aumentar el consumo de frutas y verduras para reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles. Consultado en:

http://www.who.int/elena/titles/fruit_vegetables_ncds/es/

72. World Gastroenterology Organization. de Revisión, E. (2015). Enfermedad intestinal inflamatoria.
73. Yamamoto-Furusho, J. K., Gutiérrez-Grobe, Y., López-Gómez, J. G., Bosques-Padilla, F., Rocha-Ramírez, J. L., de Colitis, G. D. C. M., & Idiopática, U. C. (2017). Consenso mexicano para el diagnóstico y tratamiento de la colitis ulcerosa crónica idiopática. *Revista de Gastroenterología de México*.
74. Yepes Barreto, I. D. J., Carmona, R., Díaz, F., & Marín-Jiménez, I. (2010). Prevalencia y características demográficas de la enfermedad inflamatoria intestinal en Cartagena, Colombia. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 25(2).
75. Zhang, Y. Z., & Li, Y. Y. (2014). Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(1), 91.

9. ANEXOS

9.1 ANEXO N°1. Identificación taxonómica de *Physalis peruviana* L.



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
Instituto de Biología
Herbario

21401205-029

Registro Nacional de Colecciones Biológicas # 027

**CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN Y DEPÓSITO DE
MATERIAL BOTÁNICO**

Fecha de expedición: 1 de abril de 2016

Colector/cliente: Universidad de Cartagena

Correo-e: jcastrog@unicartagena.edu.co

Nombre del proyecto: Evaluación del efecto inmunomodulador relacionado con el consumo de frutas cultivadas en Colombia, en un modelo de enfermedad inflamatoria inducida por DSS.

Permiso de estudio: RESOLUCIÓN No 0751 de 27 de junio de 2014, expedida por CARDIQUE.

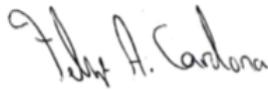
El Herbario Universidad de Antioquia (HUA) certifica que las colecciones de plantas relacionadas en las tablas anexas fueron depositadas y/o determinadas en nuestro herbario.

Ciudad Universitaria: Calle 67 N.º 53-108. Bloque 2, oficina 411
Teléfono: 219 56 14 ■ Fax: 263 82 82 ■ Apartado: 1226
Correo electrónico: herbario@matematicas.udea.edu.co ■ Medellín, Colombia

ANEXO 1. Especímenes determinados y depositados en HUA.

Número registro	Colector	Familia	Especie	Nombre común
199079	Franco L.	Rosaceae	<i>Rubus glaucus</i>	Mora de castilla
199080	Franco L.	Solanaceae	<i>Solanum betaceum</i>	Tomate de árbol
199081	Franco L.	Passifloraceae	<i>Passiflora edulis</i>	Maracuya, gulupa
199082	Franco L.	Annonaceae	<i>Annona cherimola</i>	Chirimolla
199083	Franco L.	Cactaceae	<i>Hylocereus megalanthus</i>	Pitahaya
199084	Franco L.	Solanaceae	<i>Solanum quitoense</i>	Lulo
199085	Franco L.	Passifloraceae	<i>Passiflora cumbalensis</i>	Curuba
199086	Franco L.	Solanaceae	<i>Physalis peruviana</i>	Ochuva
201951	Franco L.	Annonaceae	<i>Annona muricata</i>	Guanábana
201952	Franco L.	Myrtaceae	<i>Psidium friedrichsthalianum</i>	Guayaba agría
201953	Franco L.	Sapotaceae	<i>Pouteria sapota</i>	Sapote
201954	Franco L.	Calophyllaceae	<i>Mammea americana</i>	Mamey
201955	Franco L.	Sapotaceae	<i>Manilkara zapota</i>	Níspero

Atentamente



FELIPE ALFONSO CARDONA N.
Jefe de sección

9.2 ANEXO N°2: Permiso del comité de ética



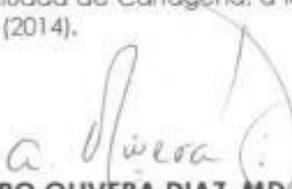
Universidad
de Cartagena
Fundada en 1827

**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIONES DE LA
UNIVERSIDAD DE CARTAGENA**

HACE CONSTAR

Que, el proyecto titulado "EVALUACIÓN DEL EFECTO INMUNOMODULADOR RELACIONADO CON EL CONSUMO DE FRUTAS CULTIVADAS EN COLOMBIA, EN UN MODELO DE ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL INDUCIDA POR DSS", presentado por **RUBEN DARÍO SALAS DÍAZ**, docente de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena, se ajusta a los requerimientos de los referentes éticos contemplados en la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud y al Reglamento de Ética de la Universidad de Cartagena, tal como consta en el Acta N° 74 del Comité de Ética en Investigaciones del día 5 de junio de 2014.

Para constancia se firma en la ciudad de Cartagena, a los once (11) días del mes de junio del año dos mil catorce (2014).


ALVARO OLIVERA DIAZ, MD
Presidente

Mapa Mentory



Vicerrectoría de Investigaciones
Centro – Cra. 4 No. 38-40, Claustro de la Merced Teletax 6642663
E-mail: investigaciones@unicartagena.edu.co web: www.unicartagena.edu.co
Cartagena de Indias, D.T. y C. – Colombia

9.3 ANEXO N°3. Test hipocrático para evaluar toxicidad

	UNIVERSIDAD DE CARTAGENA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS	
Versión: 01 Fecha: 2011/08/22	Test de Toxicidad.	Página 1 de 1

Muestra:								
Dosis, Vía de administración y Vehículo:								
Hora de administración:								
Fecha:								
Responsable:								
Parámetros:	Tiempo de repuesta							
SNC								
Actividad motora								
Reacción de alarma								
Temblores								
OREJAS								
Palidez								
Hiperemia								
Cianosis								
EFFECTOS GENERALES								
Salivación								
Pilo erección								
Micción								
Diarrea								
EFFECTOS SUBJETIVOS								
Agresivo								
Pasivo								
Temeroso								
OBSERVACIONES								

Elaborado por: Jenny Castro Guerrero	Revisado por: Yanet Ocampo Buendia	Aprobado por: Luis A Franco O
---	---------------------------------------	----------------------------------

9.4 ANEXO N°4. Registro de análisis histopatológico de Riñón

 Versión: 01 Fecha: 2012/09/03	UNIVERSIDAD DE CARTAGENA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS	 Página 1 de 1
	EB-RE-21: Análisis Histopatológico Riñón	

FECHA (Día /Mes/ Año): _____
MUESTRA: _____
ANALIZADO POR: _____

ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DE MUESTRAS RENAL					
Hallazgos Histopatológicos	Criterios de Evaluación				Observaciones
	0 (Ninguno)	1 (Leve)	2 (Moderado)	3 (Severo)	
Edema					
Tubulitis					
Cambios Regenerativos					
Necrosis Tubular Aguda					
Distalización					
Fibrosis					

9.5 ANEXO N°5. Registro de análisis histopatológico de hígado.

 Versión: 01 Fecha: 2012/09/03	UNIVERSIDAD DE CARTAGENA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS	 Página 1 de 1
	EB-RE-21: Análisis Histopatológico Hígado	

FECHA (Día /Mes/ Año): _____
MUESTRA: _____
ANALIZADO POR: _____

ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DE MUESTRA HEPÁTICA					
Hallazgos Histopatológicos	Criterios de Evaluación				Observaciones
	0 (Ninguno)	1 (Leve)	2 (Moderado)	3 (Severo)	
Inflamación y Necrosis/Apoptosis					
1 Espacio Porta					
2 Zona de Interfase					
3 Lobulillar					
Lesiones Hepatocelular					
1 Degeneracion Balonizante					
2 Vacuolización					
3 Colestasis					
Cambios Regenerativos					
Congestión Vascular					
Neoplasias					

9.6 ANEXO N°6. Registro de control de peso.

	GRUPO DE EVALUACION BIOLOGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS							
Control de peso								
Grupo	Nº animal	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:
Control sano	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
	7							
DSS	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
	7							

	GRUPO DE EVALUACION BIOLOGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS							
Control de peso								
Grupo	Nº animal	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:	Día: Fecha:
DSS + Uchuva 250mg/kg	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
	7							
DSS + Uchuva 500mg/kg	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
	7							

9.7 ANEXO N°7. Registro de índice de actividad de enfermedad.

		GRUPO DE EVALUACION BIOLOGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS											
Índice de Actividad de la enfermedad													
Grupo	Animal	Pérdida de peso					Consistencia de las heces			Sangrado recta			Puntaje
		0%	1-5%	5-10%	11-20%	> 20%	Normal	Heces blandas	Diarrea	Negativa	Sangre oculta	Sangrado abundante	
Control DSS	1												
	2												
	3												
	4												
	5												
	6												
	7												
Control DSS + 250mg/kg	1												
	2												
	3												
	4												
	5												
	6												
	7												

		GRUPO DE EVALUACION BIOLOGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS											
Índice de actividad de la enfermedad													
Grupo	Animal	Pérdida de peso					Consistencia de las heces			Sangrado recta			Puntaje
		0%	1-5%	5-10%	11-20%	> 20%	Normal	Heces blandas	Diarrea	Negativa	Sangre oculta	Sangrado abundante	
Control DSS + 500mg/kg	1												
	2												
	3												
	4												
	5												
	6												
	7												

9.8 ANEXO N°8. Registro de análisis histopatológico del colon.

	UNIVERSIDAD DE CARTAGENA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE SUSTANCIAS PROMISORIAS	
Versión: 01	EB-RE-19: Análisis Histopatológico Tejido Colónico	Página 1 de 2
Fecha: 2012/09/03		

FECHA (Día/Mes/Año): _____

MUESTRA: _____

ANALIZADO POR: _____

ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DE MUESTRA DE COLON						
Capa	Criterio de análisis	0 (Ninguno)	1 (Ligero)	2 (Leve)	3 (Moderado)	4 (Severo)
MUCOSA	Ulceración					
	Infiltración polimorfonucleares					
	Infiltración mononucleares					
	Fibrosis					
	Edema					
	Actividad mitótica					
	Dilatación					
	Depleción de células caliciformes					
SUBMUCOSA	Infiltración de polimorfonucleares					
	Infiltración de mononucleares					
	Edema					
CAPA MUSCULAR	Infiltración de polimorfonucleares					
	Infiltración de mononucleares					
SEROSA	Infiltración de polimorfonucleares y mononucleares					