

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO
DEL ACEITE DE *Plukenetia volubilis* L. MEDIANTE EL
MÉTODO DE GRANULOMA EN RATAS ALBINAS
MACHOS – IMET – ESSALUD – IQUITOS – 2011.”



TESIS

Para optar el Título Profesional de

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por:

Bach. JORGE MANUEL MESÍA PINTO – CATALAO

Bach. WENDY DIANA SINTI CHÁVEZ

Asesores

Blgo. FELIPE RÍOS ISERN

Q.F. PATRICIA UTIA TORREJÓN

Iquitos – Perú

2011

“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL ACEITE DE
Plukenetia volubilis L. MEDIANTE EL MÉTODO DE GRANULOMA EN
RATAS ALBINAS MACHOS – IMET – ESSALUD – IQUITOS – 2011.”

..:Bach. Jorge Manuel Mesía Pinto – Catalao

..:Bach. Wendy Diana Sinti Chávez

RESUMEN

Objetivo: Nuestro propósito fue evaluar el efecto antiinflamatorio, mediante el Método de Granuloma, inducido por pellets de algodón; la sustancia estudiada fue el aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi”, administradas por vía oral en ratas albinas a dosis de 200, 400, 600 y 800 ul/Kg/pc durante 30 días, los parámetros evaluados fueron hematocrito, recuento total de leucocitos y recuento diferencial (Linfocitos y Segmentados). **Método:** Como modelo biológico se utilizó ratas albinas machos cepa Holtzmann, mediante el método de granuloma inducido por pellets de Algodón. **Resultados:** Los datos fueron analizados mediante el Test de ANOVA y SPSS v. 18; donde los resultados obtenidos, indicaron que la Indometacina USP a dosis de 2.5mg/Kg/pc (control positivo), presentó mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria (41.21%), en comparación con las dosis ensayadas de *Plukenetia volubilis L.* a dosis 200ul/Kg/pc (36.20%), seguido de 400ul/Kg/pc (28.01%), 600ul/Kg/pc (20.57%) y 800ul/Kg/pc (12.13%). En los parámetros hematológicos, del grupo tratado con aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” a dosis de 200 ul/Kg/pc, se observa disminución de linfocitos dentro de vasos sanguíneos, en relación al contenido fibrogranuloso, la presencia fue similar al grupo testigo. **Conclusiones:** El aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” presenta mayor efecto antiinflamatorio a menor dosis (200ul/Kg/pc), en ratas albinas cepa Holtzmann, mediante el Método de Granuloma inducido por pellets de Algodón.

Palabras Claves: *Plukenetia volubilis L.*, Actividad Antiinflamatoria, Granuloma, Indometacina, Ratas Albinas.

“EVALUATION OF ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF OIL *Plukenetia volubilis L* USING THE METHOD OF GRANULOMA IN MALE ALBINO RATS – IMET – ESSALUD – IQUITOS – 2011.”

..: *Bach. Jorge Manuel Mesía Pinto – Catalao*

..: *Bach. Wendy Diana Sinti Chávez*

SUMMARY

Objective: Our purpose was to evaluate the antiinflammatory effect, by the Method of granuloma induced by cotton pellets, the substance was *Plukenetia volubilis L.*'s oil "Sacha Inchi", administered for oral way in albino rats at doses of 200, 400, 600 and 800 ul / Kg / pc for 30 days, the parameters assessed were hematocrit, total leukocyte count and differential count (lymphocytes and segmented). **Method:** As a biological model used Holtzmann strain male albino rats by the method of granuloma induced by cotton's pellets. **Results:** Data were analyzed using ANOVA test and SPSS v. 18, where results indicated that the USP Indometacin at doses of 2.5mg/Kg/pc (positive control) presented higher percentage of antiinflammatory activity (41.21%) compared with the doses tested in *Plukenetia volubilis L.* at doses 200 ul/Kg/pc (36.20%), followed by 400ul/Kg/pc (28.01%), 600ul/Kg/pc (20.57%) and 800ul/Kg/pc (12.13%). In hematologic parameters, the group treated with *Plukenetia volubilis L.*'s oil "Sacha Inchi" at 200ul/Kg/pc a diminution of lymphocytes in blood vessels in relation to content fibrogranuloso, the presence was similar to the control group. **Conclusions:** *Plukenetia volubilis L.*'s oil "Sacha Inchi" has greater anti-inflammatory effect at a lower dose (200ul/Kg/pc), Holtzmann strain albino rats, using the method of "granuloma induced by cotton's pellets".

Key Words: *Plukenetia volubilis L.*, Antiinflammatory Activity, Granuloma, Indometacin, Albino Rats.



Dedicatoria

Nuestra tesis la dedicamos de manera especial a DIOS por su ayuda en los momentos más difíciles de nuestra vida, ya que siempre nos está iluminando y protegiendo, es el estímulo principal que nos da fuerzas para vencer todo tipo de obstáculo.

A nuestras queridas madres Greicy Georgina Pinto-Catalao Murqueitio y Desovia Chávez Lima; reciban esta modesta dedicación, como un homenaje a sus grandeza, que desde niños nos brindaron su calidez, cuidado y fortaleza. Hacemos votos para que nuestros logros las colmen y mañana las llenen de orgullo. Tengan presente que la gloria más grande que tenemos es el ser hijos suyos.

A nuestros queridos padres Roger Sinti Cahuaza y Jorge Mesía Vela; que han sido siempre hombres admirables, que nos han brindado cuidado, amor y comprensión, quienes con sus sabios consejos orientaron nuestros pasos por el camino recto de la vida, convirtiéndose por sus virtudes en nuestros mejores amigos.

Acertada y rica herencia son sus ejemplos. Por eso nuestros padres merecen hoy, mañana y siempre todos nuestros honores, cariño y el respeto de sus hijos.

A nuestros hermanos Hernando Enrique Mesía Pinto-Catalao y Roger Francisco Javier Sinti Chávez; quienes con sus apoyos morales nos ayudaron a no abandonar la batalla contra la adversidad, en los días en que se nos acumularon compromisos de estudio, trabajo y atención a la familia.

A nuestro recordado y querido Dr. José Esteban Betancourt Badell, por brindarnos sus sabios y valiosos conocimientos, motivación y orientación profesional.



Agradecimiento

Queremos agradecer de manera especial al Instituto de Medicina Tradicional (IMET – EsSalud), por permitimos el uso de sus instalaciones y equipos para la ejecución del presente proyecto.

A la Universidad Peruana Cayetano Heredia – Facultad de Medicina Veterinaria, por apoyarnos en la adquisición de los materiales biológicos.

Al Blgo. Felipe Ríos Isern y a la QF. Patricia Utia Torrejón, asesores del presente proyecto, por su constante apoyo y orientación desinteresada durante todo el tiempo de desarrollo de la investigación.

A todos nuestros amigos y compañeros de estudios por su amistad y apoyo; en especial a Janet Rossana Rojas Vásquez, Tommy Eleazar Pinedo Pérez y Billy Morales Pérez.

A los miembros del jurado examinador: Q.F. Luis Domingo Nonato Ramírez, Dr. (Presidente del Jurado), Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong (1^{er} Miembro) y Dr. M.C. Charles Ocampo Falcón (2^{do} Miembro) por sus exigencias en la redacción y revisión del proyecto de tesis.

A todos los profesores de nuestra querida Facultad de Farmacia y Bioquímica, que nos brindaron y enseñaron sus conocimientos en las diversas ramas de nuestra carrera, para el fortalecimiento cotidiano de nuestro aprendizaje y formación profesional como futuros químicos farmacéuticos.

Al personal administrativo de la Facultad de Farmacia y Bioquímica por facilitarnos los trámites de nuestro proyecto de tesis.

Por último, queremos agradecer a nuestras familias por su apoyo incondicional y aliento, por estar con nosotros en los buenos y en los malos momentos, por enseñarnos y hacernos valorar que las cosas en la vida no se obtienen fácilmente, sino que cuesta mucho esfuerzo y sacrificio, nada es imposible en la vida si en verdad se quiere alcanzar la meta y te nace del corazón las ganas de obtenerlo.

Muchas Gracias, a todos ellos.



CAPÍTULO I	Página
1. INTRODUCCIÓN	18
2. PROBLEMA DE INVESTIGACION	20
3. OBJETIVOS	21
4.1 Objetivos Generales	21
4.2 Objetivos Específicos	21
CAPÍTULO II	
1. MARCO TEÓRICO	23
1.1 <i>Plukenetia volubilis L.</i>	23
1.1.1. Antecedentes	23
1.1.2. Generalidades	27
1.1.3. Descripción Botánica	29
1.1.4. Composición Química	29
1.1.5. Información Etnomédica	36
1.2. Inflamación	37
1.2.1. Definición	37
1.2.2. Características Generales de la Inflamación	38
1.2.3. Etapas del Proceso de la Inflamación	39
1.2.4. Células de la Inflamación	42
1.2.5. Mediadores Químicos de la Inflamación	45
1.2.6. Modelos Animales para el Estudio de la Actividad Antiinflamatoria	47
1.2.7. Patrones de la Inflamación	48
1.2.8. Indometacina	51
1.2.9. Antiinflamatorios no Esteroides	52
2. HIPÓTESIS	67

3. DEFINICIONES OPERACIONALES	67
3.1. Variables	67
3.1.1. Variable Independiente (X)	67
3.1.2. Variable Dependiente (Y)	67
3.2. Operacionalización de Variables	68

CAPÍTULO III

1. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	72
1.1 Tipo de Estudio	72
1.2 Diseño de Investigación	72
2. POBLACIÓN Y MUESTRA	74
2.1 Población Vegetal	74
2.2 Muestra Vegetal	74
2.3 Población de Animal	74
2.4 Muestra Animal	75
3. PROCEDIMIENTOS Y RECOLECCIÓN DE DATOS	76
3.1 Recolección de Muestras Vegetales	76
3.2 Obtención del Aceite	76
3.3 Pruebas Hematológicas	77
4. ETAPA DE CUARENTENA Y SISTEMA DE IDENTIFICACIÓN DE ANIMALES	79
4.1 Etapa de Cuarentena	79
4.2 Sistema e Identificación	79
5. MÉTODO DE GRANULOMA INDUCIDO POR PELLET DE ALGODÓN	79
6. PROTECCIÓN DE LOS DERECHOS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO	82

7. MANEJO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	82
8. PLAN DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN	83
8.1 Análisis Estadístico	83
9. MATERIALES, EQUIPOS Y DROGAS	84
3.1 Materiales	84
3.1.1 Material Vegetal	84
3.1.2 Material Biológico	84
3.1.3 Materiales de Laboratorio	84
3.2 Equipos	85
3.3 Drogas e Insumos Químicos	85
CAPÍTULO IV	
10. RESULTADOS	87
11. DISCUSIÓN	103
12. CONCLUSIONES	107
13. RECOMENDACIONES	108
14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
ANEXOS	117

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido

- Cuadro N° 01:** Contenido de Nutrientes de Semillas Oleaginosas
- Cuadro N° 02:** Composición de Ácidos Grasos de *Plukenetia volubilis L.* (%)
- Cuadro N° 03:** Operacionalización de Variables Independientes
- Cuadro N° 04:** Operacionalización de Variables Dependientes – Efecto Antiinflamatorio
- Cuadro N° 05:** Operacionalización de Variables Dependientes – Parámetros Hematológicos
- Cuadro N° 06:** Distribución de los Grupos de Estudio según Esquema de Tratamiento
- Cuadro N° 07:** Fichas de Recolección de Datos para la Evaluación Antiinflamatoria
- Cuadro N° 08:** Fichas de Recolección de Resultados para la Evaluación Antiinflamatoria –Pellets de Algodón.
- Cuadro N° 09:** Fichas de Recolección de Datos para la Evaluación Antiinflamatoria –Recuento Diferencial.
- Cuadro N° 10:** Composición del Reactivo de Turk.
- Cuadro N° 11:** Composición de la Tinción de Wrigth.

ÍNDICE DE TABLAS

Contenido

- Tabla N° 01:** Promedio del Contenido Fibrogranuloso de la Evaluación del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 200ul/Kg/pc en ratas albinas.
- Tabla N° 02:** Promedio del Contenido Fibrogranuloso de la Evaluación del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 400ul/Kg/pc en ratas albinas.
- Tabla N° 03:** Promedio del Contenido Fibrogranuloso de la Evaluación del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 600ul/Kg/pc en ratas albinas.
- Tabla N° 04:** Promedio del Contenido Fibrogranuloso de la Evaluación del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 800ul/Kg/pc en ratas albinas.
- Tabla N° 05:** Promedio del Contenido Fibrogranuloso de la Evaluación de la Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/kg en ratas albinas.
- Tabla N° 06:** Promedio del Contenido Fibrogranuloso de la Evaluación de la Solución Salina 0.9% en ratas albinas.
- Tabla N° 07:** Porcentaje de Actividad Antiinflamatoria en los Grupos Experimentales.
- Tabla N° 08:** Niveles de Hematocrito (%) en los Grupos Experimentales durante 30 días.
- Tabla N° 09:** Niveles de Recuento Total de Leucocitos (mm³) en los Grupos Experimentales durante 30 días.

- Tabla N° 10:** Niveles de Recuento Diferencial – Linfocitos (%) en los Grupos Experimentales durante 30 días.
- Tabla N° 11:** Niveles de Recuento Diferencial – Segmentados (%) en los Grupos Experimentales durante 30 días.
- Tabla N° 12:** Tabla de Dosificación (Factor de Volumen (ml x 10⁻²) / gmc.)
- Tabla N° 13:** Parámetros Hematológicos de Ratas Albinas Machos tratadas con *Plukenetia volubilis L.*
- Tabla N° 14:** Tabla de Lectura del Hematocrito.

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Contenido

- Gráfico N° 01:** Porcentaje de Actividad Antiinflamatoria en los Grupos Experimentales durante el ensayo.
- Gráfico N° 02:** Niveles de Hematocrito (%) en los Grupos Experimentales durante 30 días.
- Gráfico N° 03:** Niveles de Recuento Total de Leucocitos (mm^3) en los Grupos Experimentales durante 30 días.
- Gráfico N° 04:** Niveles de Recuento Diferencial – Linfocitos (%) en los Grupos Experimentales durante 30 días.
- Gráfico N° 05:** Niveles de Recuento Diferencial – Segmentados (%) en los Grupos Experimentales durante 30 días

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido

- Figura N° 01:** Planta del Sacha Inchi
- Figura N° 02:** Estructura Química del Ácido Linoleico
- Figura N° 03:** Estructura Química del Ácido Linolénico (Ácido Alfa – Linolénico)
- Figura N° 04:** Estructura Química del Ácido Trans – Oleico
- Figura N° 05:** Estructura Química del Ácido Cis – Oleico
- Figura N° 06:** Inflamación Granulomatosa
- Figura N° 07:** Estructura Química de la Indometacina
- Figura N° 08:** Flujograma del Proceso de Recolección y Análisis de Datos.

ÍNDICE DE FOTOS

Contenido

- Foto N° 01:** Informe de Análisis del Aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” utilizada en el ensayo.
- Foto N° 02:** Certificado del Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
- Foto N° 03:** Certificado de Salud de los animales de experimentación.
- Foto N° 04:** Planta de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi)
- Foto N° 05:** Fruto de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi)
- Foto N° 06:** Nutraceute Omega 3 del IMET de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi)
- Foto N° 07:** Bioterio del Instituto de Medicina Tradicional – EsSalud.
- Foto N° 08:** Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/Kg.
- Foto N° 09:** Pesaje y Esterilización de los Pellets de Algodón
- Foto N° 10:** Pesaje y Marcaje de los Animales en Experimentación
- Foto N° 11:** Anestésico General (Halatal) y su Administración Vía Intraperitoneal
- Foto N° 12:** Depilado de los Animales en Experimentación
- Foto N° 13:** Pellets de Algodón Esterilizados y Pellets embebidos con Bencilpenicilina Sódica de 1'000,000 UI

- Foto N° 14:** Incisión Dorsal e Implantación de los Pellets de Algodón
- Foto N° 15:** Sutura Dorsal de los Animales en Experimentación
- Foto N° 16:** Cánula Intragástrica utilizada para la Administración del Nutraceite Omega 3 del IMET
- Foto N° 17:** Toma de Muestra de la Vena Caudal de la Cola del Animal en Experimentación
- Foto N° 18:** Frotis Sanguíneo del Grupo en Experimentación
- Foto N° 19:** Tinción Wright y posterior Lavado de las Láminas con Agua Destilada
- Foto N° 20:** Capilares Heparinizados con Muestra Sanguínea para la Lectura del Hematocrito
- Foto N° 21:** Colocando el Reactivo de Turk en los Tubos de Ensayo
- Foto N° 22:** Vista Microscópica de la Cámara de Neubauer para la Lectura del Recuento Total de Linfocitos
- Foto N° 23:** Vista Microscópica de 100X para Lectura de Linfocitos y Segmentados
- Foto N° 24:** Sacrificio de los Animales por la Técnica de Dislocación Cervical
- Foto N° 25:** Extracción de los Pellets de Algodón
- Foto N° 26:** Pellets de Algodón Húmedo
- Foto N° 27:** Pellets de Algodón Seco

TITULO:

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO
DEL ACEITE DE *Plukenetia volubilis* L. MEDIANTE EL
MÉTODO DE GRANULOMA EN RATAS ALBINAS
MACHOS – IMET – ESSALUD – IQUITOS – 2011”.**

Four decorative corner brackets, each with a blue and green gradient, arranged in a square around the text.

CAPÍTULO I



1. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) lanzó una estrategia sobre medicina tradicional para facilitar a los países, las posibilidades de exploración de esa medicina para mejorar la salud y el bienestar de la población, reduciendo a la vez al mínimo los riesgos de utilización de remedios de eficacia no demostrada, o de un empleo inadecuado.⁽¹⁾

La inflamación es el término empleado para describir la esperada respuesta normal a las lesiones en los tejidos sanos; por consiguiente, un precursor esencial para la restauración de las lesiones. Debe de considerarse como un mecanismo de defensa no específico y muy efectivo, sin el cual no podríamos sobrevivir.⁽²⁾

Dentro de las enfermedades que aquejan a la población mundial, los procesos inflamatorios representan un grupo importante; enfermedades como artritis reumatoidea, gota, asma o trastornos neurodegenerativos, implican reacciones inflamatorias, en algunos casos incapacitantes para quienes lo padecen. Como consecuencia de ello, existe una gran necesidad por descubrir y/o desarrollar nuevos agentes antiinflamatorios con mínimos efectos adversos.^(3,4)

Los antiinflamatorios constituyen uno de los grupos terapéuticos de más amplia utilización en nuestro país y en el mundo, por lo que son fármacos de una gran aceptación y demanda, que a su vez constituye un verdadero reto en la investigación de plantas medicinales alternativas, que pueda establecer los perfiles de seguridad de estos medicamentos y lograr menores efectos secundarios durante el tratamiento.

Plukenetia volubilis L. “Sacha Inchi” por tener alto contenido en ácidos grasos esenciales (Omega 3 y 6), antioxidantes, alfa – tocoferol, vitamina E es considerado como mejor alternativa de consumo en nuestra dieta diaria ya que es muy rica en aminoácidos esenciales y no esenciales, en cantidades suficientes

para la salud y el control de radicales libres y una serie de enfermedades que estos originan en el organismo humano. También cumplen una función de control y reducción de colesterol, principal causa de mortalidad en el mundo.⁽⁵⁾

Algunas hormonas se producen a partir de los ácidos grasos esenciales, éstos cumplen funciones muy importantes en la regulación de la presión arterial, la función renal, la función inmunitaria, la agregación de las plaquetas y, por lo tanto, son claves para la coagulación de la sangre. Igualmente, son importantes en el proceso inflamatorio y en la respuesta alérgica.⁽⁶⁾

Teniendo en cuenta la necesidad actual del aprovechamiento de los recursos que nos brinda la madre naturaleza para el beneficio humano y que deben utilizarse de forma racional, segura y efectiva, resulta importante realizar la evaluación del efecto antiinflamatorio del aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi”, con la finalidad de evaluar dicha actividad y poder recomendar su estudio en posteriores investigaciones, y de este modo, ser utilizado como una alternativa terapéutica segura y confiable en el tratamiento de la inflamación.



2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

- ¿El aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 200, 400, 600 y 800 μ l/Kg/pc administrada por vía oral, tiene Efecto Antiinflamatorio en Ratas Albinas Machos – IMET – EsSalud – Iquitos 2011?



3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- ✓ Evaluar el efecto antiinflamatorio, mediante el Método de Granuloma, del aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi”, administradas por vía oral en ratas albinas machos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar los parámetros hematológicos, indicadores de la inflamación en ratas albinas cepa Holtzmann mediante el Método de Granuloma inducido por pellets de algodón, administrada por vía oral a dosis de 200, 400, 600 y 800 $\mu\text{l/Kg/pc}$, del aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi”.
- Comparar la actividad antiinflamatoria del aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 200, 400, 600 y 800 $\mu\text{l/Kg/pc}$ administrada por vía oral a ratas albinas cepa Holtzmann mediante el Método de Granuloma inducido por pellets de algodón en relación a Indometacina a dosis de 2.5 mg/Kg/pc.
- Determinar el efecto antiinflamatorio del aceite a dosis de 200, 400, 600 y 800 $\mu\text{l/Kg/pc}$ de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” administrada por vía oral a ratas albinas cepa Holtzmann mediante el Método de Granuloma inducido por pellets de algodón.

Four decorative corner brackets, each with a blue outer edge and a green inner edge, arranged in a square pattern around the text.

CAPÍTULO II



1. MARCO TEÓRICO:

1.1 *Plukenetia volubilis* L.

1.1.1 ANTECEDENTES

1.1.1.1 ESTUDIOS FITOQUÍMICOS

Muñoz J; Ramos E; Alvarado O; Castañeda C; Barnett M; Yáñez F; Cajaleón A. (2010). Realizaron la cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC demostraron la presencia de ácidos fenólicos tales como ácido cafeico 3,51 mg/Kg, y ferúlico 1,68 mg/Kg.⁽⁷⁾

Asimismo, se encontraron flavonoides: 42,93 mg/kg de rutina, 28,46 mg/kg de hesperidina y 53,24 mg/Kg de morina; identificaron la presencia de fitoesteroles en Sacha Inchi. Inmediatamente se cuantificaron fitoesteroles. Los resultados mostraron 75,49 mg/100g deestigmasterol y 74,56 mg/100g de β -sitosterol.⁽⁷⁾

Aranda. J. (2010). Realizó un segundo perfil de ácidos grasos del aceite de *Plukenetia volubilis* L., encontrando: 47,8 % de ácido α -linolénico, 34 % de ácido linolénico, 9,9 % de ácido oleico, 4,0 % ácido palmítico, 3,4 % ácido esteárico, 0,3 % ácido gadoleico, 0,1 % ácido araquídico, 0,1 % ácido lignocérico, 0,1 % ácido heptadecanoico. Ácidos grasos poliinsaturados 81,8 %, ácidos grasos monoinsaturados 10,2 % y ácidos grasos saturados 7,7 %. Se encontró el ácido lignocérico. En ambos estudios la procedencia de la semilla fue de la comunidad de Padre Cocha, Loreto.⁽⁸⁾(Anexo 07)

Castillo S, Ericson F, Castillo V, Segundo F, Reyes A, Cecilia E (2010). Realizaron un estudio para determinar los metabolitos secundarios presentes en *Plukenetia volubilis* L. y al mismo tiempo analizar su efecto antioxidante en la lipoperoxidación inducida por Fe^{3+} /ascorbato en homogenizado de hígado de

Rattus rattus var. *albinus*. Este estudio fue realizado con la finalidad de determinar cualitativamente los metabolitos secundarios por medio de las reacciones de coloración y precipitación. El análisis fitoquímico del extracto etanólico reveló la presencia de taninos, flavonoides, esteroides y alcaloides. El presente estudio demostró el efecto antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Plukenetia volubilis* L. mediante la reacción del ácido tiobarbitúrico, midiendo el malonaldehído (MDA) formado, con el propósito de determinar la peroxidación lipídica.⁽⁹⁾

Aranda, A. (2008). Determinó el efecto del tostado de la semilla de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la estabilidad oxidativa del aceite extraída de dicha semilla. Se determinó el perfil de ácidos grasos en las muestras y el contenido de tocoferoles mediante cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta performance (HPLC) respectivamente. El valor de peróxido y el de p-anisidina. Se emplearon para determinar la estabilidad oxidativa.⁽¹⁰⁾

Gloria Pascual Ch, Margarita Mejía L.(2000). Evaluaron características, composición y extracción del aceite crudo de la semilla de Sacha Inchi(*Plukenetia volubilis* L.).La extracción del aceite se llevó a cabo por extracción mecánica y por solvente previamente con diferentes parámetros de tratamiento térmico. El contenido de aceite determinado en las semillas fue de 51.4%. La composición en ácidos grasos del aceite crudo determinada por cromatografía de gases reveló un alto grado de insaturación (90.34%) destacándose el ácido linolénico (43,75%) seguido del ácido linoléico con 36.99%. Entre los ácidos grasos saturados el más significativo fue el ácido palmítico con 5.61%. Las características físicas y químicas mostraron ser similares a los de otros aceites vegetales comestibles.⁽¹¹⁾

1.1.1.2 ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS Y CLÍNICOS

Rodríguez, C., Tuesta, V. (2010). Realizaron un estudio con 40 ratas divididos en 4 grupos de 10 cada uno: 2 grupos experimentales y 2 grupos controles. Ellos indujeron hiperglucemia administrando Alloxano monohidratado a dosis de 150 mg./Kg. p.c. al 10 % por vía intraperitoneal. A los 2 grupos experimentales se administraron el aceite de *Plukenetia volubilis L.* por vía oral a dosis de 200 y 400 µl/Kg p.c. respectivamente, a los grupos controles se administraron Glibenclamida 5 mg. por vía oral e insulina humana ADN recombinante por vía subcutánea a dosis de 0.25 µl/Kg p.c. determinaron que el aceite de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi) a dosis de 200 y 400 µl/Kg /pc no reportó actividad hipoglucemiante en ratas albinas.⁽¹²⁾

Linares, E., et. al (2009). Realizaron un estudio con 48 ratas divididos en 8 grupos de 6 cada uno: 5 grupos experimentales y 3 grupos controles. Ellos indujeron hiperlipidemia administrando 200 mg/ml de colesterol químicamente puro durante 60 días.⁽¹³⁾

A los 5 grupos experimentales se administraron el aceite de *Plukenetia volubilis L.*, por vía oral a dosis de 200, 400, 800, 1600 y 3200 µl/Kg/p.c. respectivamente, a los grupos controles administraron Atorvastatina a dosis de 10 mg/Kg/p.c. y Gemfibrozilo a dosis 600 mg/Kg./p.c. Determinaron que el aceite de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi) a dosis de 400 µl y 800 µl reportó la mayor actividad hipolipemiante.⁽¹³⁾

Ríos, F., et. al (2008) realizaron un estudio para evaluar la actividad gastroprotectora del aceite puro de *Plukenetia volubilis L.* a 200 µl y 400 µl v/v, administrado vía oral por 7 días; se utilizaron ratas albinas cepa Holtzmann machos, divididos en 4 grupos de 6 animales, mediante la inducción de lesiones gástricas con etanol absoluto; empleándose Ranitidina 50 mg/Kg./p.c. como control positivo, y Cloruro de Sodio al 0.9 % como control negativo. Según los resultados obtenidos, se concluye que el aceite de *Plukenetia volubilis L.*, presenta actividad gastroprotectora sobre las lesiones gástricas, ya que presentó significancia biológica en relación al grupo control.⁽¹⁴⁾

Huamán, J. et. al (2008) determinaron que la ingesta de 50 gr de semillas tostadas de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi) que contenía 11 gr de omega 3 e ingerido como maní disminuyó la trigliceridemia posprandial en adultos jóvenes.⁽¹⁵⁾

1.1.1.3 ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS

Castro, J., et. al (2009). Realizó un estudio con 21 ratones albinos de ambos sexos divididos en 3 grupos de 7 cada uno: 1 grupo experimental y 2 grupos controles para la prueba de anomalías morfológicas en la cabeza de los espermatozoides y para el ensayo cometa se utilizaron ratas de ambos sexos divididos en 5 grupos de 8 cada uno: 5 grupos experimentales y 2 controles.⁽¹⁶⁾

Obtuvieron los siguientes resultados: En el ensayo Cometa se mostró que la dosis única de 400 µl diarios del Nutraceite Omega 3 del IMET® por vía oral no es genotóxica; pero las dosis de 1600 y 3200 µl diarios del producto son de bajo nivel de genotoxicidad y en el ensayo de células germinales, en relación a la presencia de cabezas normales de los espermatozoides no se encontraron diferencias significativas.⁽¹⁶⁾

Ríos, F., et. al (2009) Realizó un estudio con ratas albinas cepa Holtzmann de ambos de ambos sexos. El Nutraceite Omega 3 del IMET® *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi”, se administró diariamente por vía oral a volúmenes de 200 µl y 400 µl, por 30 días se establecieron un grupo control con solución salina y dos grupos con el Nutraceite Omega 3 del IMET®. Al final del estudio se realizó la necropsia de todos los animales, para el estudio macroscópico e histopatológico de órganos. Según los resultados obtenidos no se observaron signos clínicos que evidencien toxicidad ni alteraciones macroscópicas a nivel de órganos diana en ninguno de los grupos de experimentación.⁽¹⁷⁾

Ríos, F., et. al (2008) realizaron un estudio con ratones albinos *Mus Musculus* cepa Balb/C/CNPB y ratas albinas *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann de ambos sexos. El aceite se administró a volumen máximo de 0.5 ml para los ratones y

para las ratas de 3.62 ml. En ambos ensayos, se establecieron un grupo control donde se administró solución salina; se realizaron observaciones de los signos tóxicos durante los 14 días post administración; control del peso, al final se realizó la necropsia, para el estudio macroscópico de los órganos. Según los resultados obtenidos no se observaron signos clínicos que evidencien toxicidad ni alteraciones macroscópicas a nivel de órganos diana en ninguno de los grupos de experimentación. Por lo tanto el Nutraceute Omega 3 del IMET® *Plukenetia volubilis L.*, resultó NO TÓXICO, por el método de Dosis Límite y por el de Clases Tóxicas Agudas se clasificó como ATC₀ considerándose NO CLASIFICABLE, según nuestras condiciones de experimentación.⁽¹⁸⁾

1.1.1.4 ESTUDIOS FARMACOGNÓSTICOS Y BROMATOLÓGICOS

Gorriti, A., et al (2006) encontraron ácidos esenciales poliinsaturados (82,21%), monoinsaturados (9,62%) y saturados (7,62%) en el aceite de sachá inchi, destacando: ácido linolénico (48,54%) y el ácido linoléico (36,67%). Asimismo ha demostrado la actividad hipolipemiente del aceite de *Plukenetia volubilis L.*, la cual no produce toxicidad a dosis límite.⁽¹⁹⁾

Pascual, G., et al (2000) encontraron ácidos grasos del aceite crudo de sachá inchi, destacando el ácido linolénico (43,75%) y el ácido linoléico (36,99%) y ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (5,61%).⁽²⁰⁾

1.1.2 GENERALIDADES

El Sachá Inchi es una planta nativa de la Amazonía Peruana descrita por primera vez, como especie, en el año 1753 por el Naturalista Linneo; de ahí su nombre científico *Plukenetia volubilis L.* El orden a que pertenece (Euphorbiaceae) está distribuido en todo el mundo abarcando alrededor de 280 géneros con 8000 Especies.⁽²¹⁾

En el Perú se la conoce desde siglos atrás bajo diferentes nombres, entre ellos Sachá Inchi, término quechua que significa Maní del monte o silvestre; Amui, término utilizado por las tribus aborígenes de la Amazonía; Sachá Inchi, Maní

del Monte, Maní del Inca e Inca Peanut. Se pueden encontrar registros de su origen en Perú en las culturas pre-incas nor-orientales, mediante representaciones de su fruto en huacos Chimús y Mochicas. Actualmente se estudia la presencia de esta planta en la cultura Caral, al norte de Lima-Perú, con más de 3000 años de antigüedad. En nuestros días se cultiva en los departamentos de San Martín, Loreto, Ucayali, Pasco, Huánuco, Cajamarca y Junín. Así mismo en los países vecinos como Colombia, Ecuador. ⁽²¹⁾



Figura N° 01: Planta del Sacha Inchi.

1.1.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

1.1.3.1 Identificación Taxonómica según el sistema de Clasificación de Adolph Engler.

División	:	Angiospermae
Clase	:	Dicotyledoneae
Sub-clase	:	Archichlamideae
Orden	:	Geraniales
Familia	:	Euphorbiaceae
Género	:	Plukenetia
Especie	:	volubilis Linneo
Nombre científico	:	<i>Plukenetia volubilis L.</i>

1.1.4 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Plukenetia volubilis L. es una planta trepadora, monoica, decidua. Las hojas son opuestas y simples; la lámina foliar es obovado – triangular, 6 – 13(-20) cm de largo y 4 – 10(-12) cm de ancho, con base truncada o cordada; el margen es crenado o finamente aserrado; en la cara adaxial se presenta una protuberancia glandular en el ápice del pecíolo. La inflorescencia es racemosa, alargada, monoica (bisexual), y de 5 – 18 cm de largo; las flores pistiladas se encuentran solitarias en los nudos basales, la columna estilar es parcial o totalmente connada, 15 – 30 mm de largo, flores masculinas subglobosas, numerosas, agrupadas en los nudos distales; estambres 16 – 30, con filamentos conspicuos, cónicos, 0,5 mm de largo. Las cápsulas son tetra o pentámeras, glabras, 2,5 – 6(-7) cm de diámetro. Las semillas son lenticulares, comprimidas lateralmente y de color marrón con manchas irregulares más oscuras, 1,5 – 2 x 0,7 – 0,8 cm.⁽²²⁾

1.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Dentro de sus composiciones se encuentran principalmente: proteínas, aminoácidos, ácidos grasos esenciales (omegas 3, 6 y 9) y vitaminas E (tocoferoles y tocotrienoles) en contenidos significativamente elevados, respecto de semillas de otras oleaginosas (maní, palma, soya, maíz, colza y girasol). Investigaciones recientes realizadas con aceites omegas y vitaminas E indican la importancia nutricional y terapéutica de su consumo para el control de radicales libre y una serie de enfermedades que estos originan en el organismo humano.⁽²³⁾

CUADRO N° 01

Contenido de Nutrientes de Semillas Oleaginosas

SEMILLAS NUTRIENTES	SACHA INCHI	SOYA	MAÍZ	MANÍ	GIRASOL	ALGODÓN	PALMA	OLIVA
Proteínas	29	28		23	24	32.9		
Aceite Vegetal	54	19		45	48	16		
Palmítico Saturado	3.85	10.5	11	12	7.5	18.4	45	13
Esteárico Saturado	2.54	3.2	2	2.2	5.3	2.4	4	3
Oleico Monoinsaturado	8.28	22.3	28	43.3	29.3	18.7	40	71
POLIINSATURADOS:								
Linoléico Ω_6	36.8	54.5	58	36.8	57.9	57.5	10	10
Linolénico Ω_3	48.61	8.3	1	0	0	0.5	0	1

Fuente: HAZEN&STOVESAND, 1980 – Agroindustrias Amazónicas, 2001

1.1.5.1 Ácidos Grasos Insaturados del Sacha Inchi:

Con mucha frecuencia, aparecen insaturaciones en los ácidos grasos en forma de dobles enlaces en la misma cadena, estos no aparecen conjugados (alternados), sino cada tres átomos de carbono.⁽⁹⁾

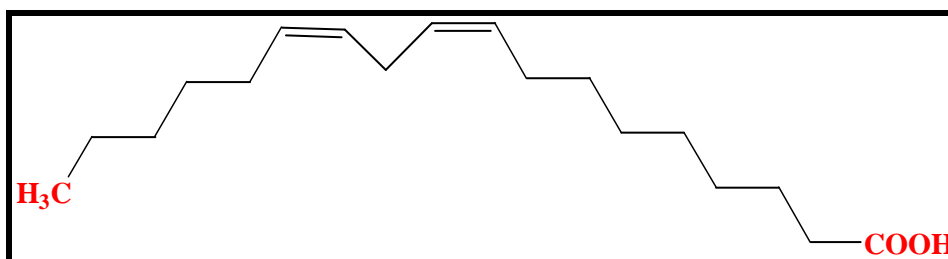
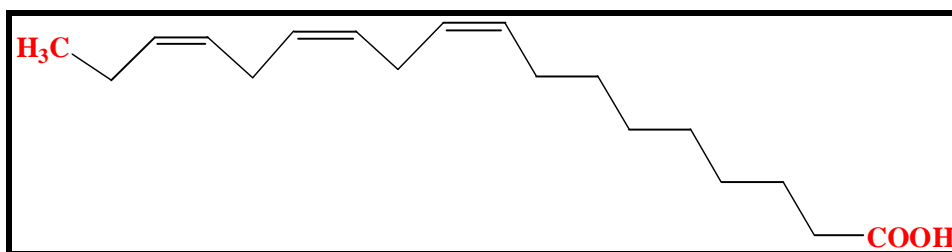


Figura N° 02. Estructura Química del Ácido Linoleico



**Figura N° 03. Estructura Química del Ácido Linolénico
(Ácido Alfa – Linolénico).**

Por lo general, las insaturaciones de los ácidos grasos son del tipo cis. Esto hace que la disposición de la molécula sea angulada, con el vértice en la insaturación. Esta angulación hace que el punto de fusión de los ácidos insaturados sean más bajos que los de sus homólogos saturados.

Los dobles enlaces en trans distorsionan poco la simetría cristalina, que es muy parecida a la de los ácidos grasos saturados.⁽⁹⁾

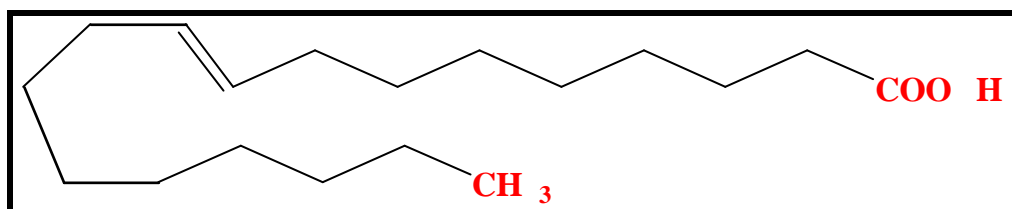


Figura N° 04. Estructura Química del Ácido Trans – Oleico.

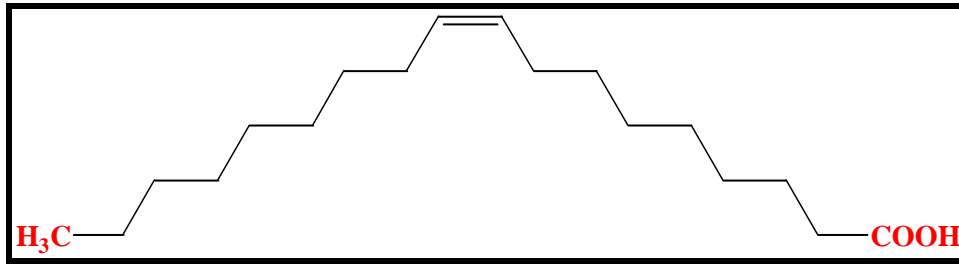


Figura N° 05. Estructura Química del Ácido Cis – Oleico.

Algunos ácidos grasos poliinsaturados (linoleico, linolénico y araquidónico) no pueden ser sintetizados por los animales superiores (incluido el hombre) y como su función biológica es fundamental, deben ser suministrados en la dieta. ⁽⁹⁾

Por este motivo reciben el nombre de ácidos grasos esenciales. Estas consideraciones están implícitas en relación a la presencia de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta:

- 1) Reemplazan a los ácidos grasos saturados.
- 2) Disminuyen la síntesis de ácidos grasos saturados.
- 3) Disminuyen los niveles circulantes de lipoproteínas.
- 4) Regulan la síntesis de eicosanoides. ⁽²⁴⁾

Altos niveles de lipoproteínas en circulación pueden ser un factor de riesgo de varias enfermedades y la excesiva formación de eicosanoides puede ser un elemento común a muchas enfermedades. ⁽²⁴⁾

1.1.5.2 Ácidos Grasos Esenciales del Sacha Inchi:

Existen dos ácidos grasos poliinsaturados (AGP) que el cuerpo no puede producir: el ácido linoleico y el ácido alfa - linolénico. Deben obtenerse de la dieta y se conocen como ácidos grasos esenciales. ⁽²⁴⁾

Los ácidos grasos esenciales (AGE) reciben esta denominación puesto que:

a) No pueden ser sintetizados por el organismo.

b) Cumplen un importante rol metabólico.⁽²⁴⁾

Una vez en el cuerpo, se pueden convertir en otros AGP, como el ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA).⁽²⁵⁾

En el cuerpo, los AGP son importantes para: mantener las membranas de todas las células, producir las prostaglandinas que regulan muchos procesos corporales como la inflamación y coagulación de la sangre.⁽²⁵⁾

1.1.5.3 Ácidos Grasos: Omega – 3:

Los ácidos grasos omega - 3 son ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en alta proporción en los tejidos de ciertos pescados y en algunas fuentes vegetales como las semillas de lino, nueces, mostaza, pepas de calabaza, soja, hortalizas de hoja verde y cereales.⁽²⁶⁾

Se ha demostrado experimentalmente que el consumo de grandes cantidades de omega - 3 aumenta considerablemente el tiempo de coagulación de la sangre, lo cual explica por qué en comunidades que consumen muchos alimentos con omega - 3 (esquimales, japoneses, etc.) la incidencia de enfermedades cardiovasculares es sumamente baja.⁽²⁶⁾

1.1.5.4 Omega - 3 de Cadena Corta:

Los que están presentes en los aceites vegetales tienen 18 átomos de carbono. El alfa - linolénico de cadena corta se encuentra en aceites como la soja y canola.⁽²⁶⁾

1.1.5.5 Omega - 3 de Cadena Larga:

Los que están presentes en los aceites marinos tienen más de 18 átomos de carbono. Los ácidos grasos omega - 3 de cadena larga incluyen al “alfa - linolénico” y sus derivados los ácidos grasos “Eicosapentaenoico” (EPA) y “Docosahexaenoico” (DHA). Ambos se encuentran en pescados principalmente en aquellos más grasos como jurel, salmón, bacalao y sardina.⁽²⁶⁾

1.1.5.6 Funciones de los Omega – 3:⁽²⁶⁾

- Ayudan en las enfermedades con reacciones fisiológicas y fisiopatológicas tales como alteraciones cardiovasculares, prevalencia de diabetes tipo 2, trombosis, hipersensibilidad (artritis reumatoidea, alergias) y coagulación sanguínea.
- Su consumo actúa mejorando la función inmunológica, disminuyendo la agregación de las plaquetas, reduciendo la respuesta inflamatoria en enfermedades y mejorando la dilatación de las arterias.
- Su ingesta baja los triglicéridos.
- Su consumo eleva el colesterol bueno o HDL (protegiendo al corazón y las arterias).
- Estudios más recientes han determinado que la suplementación del omega - 3 podría ser provechosa contra muchas enfermedades inflamatorias.

1.1.5.7 Ácidos Grasos: Omega – 6:

Son ácidos grasos poliinsaturados que se encuentra en los aceites vegetales de: girasol, maíz, soja, calabaza, pepita de uva y germen de trigo.⁽²⁷⁾

1.1.5.8 Funciones de los Omega – 6:

- Los ácidos grasos omega - 6 son considerados esenciales con amplios efectos biológicos positivos para la salud, como el alivio de la inflamación relacionada con la artritis reumatoide y los síntomas del síndrome premenstrual. Los efectos biológicos del omega - 6 interactúan con los efectos de los ácidos grasos omega - 3. ⁽²⁵⁾
- Un consumo adecuado de omega - 6 baja el nivel del colesterol total y del colesterol LDL (colesterol malo). ⁽²⁷⁾

CUADRO N° 02

Composición de ácidos grasos de *Plukenetia volubilis L.* (%)

Palmítico	C 16:0	3,65
Esteárico	C 18:0	2,54
Oleico	C 18:1 w9	8,28
Linoleico Omega 6	C 18:2 w6	36,80
Alfa Linolénico Omega 3	C 18:3 w3	48,61
Total Saturados		6,19
Total Insaturados		93,69

1.1.5.9 Información Etnomédica:⁽¹⁰⁾

- ✓ El Sacha Inchi en beneficio de la salud resulta imprescindible incluirlo en nuestras comidas ya que favorece el correcto desarrollo y funcionamiento tanto del sistema nervioso como del cerebro pues es rico en Ácidos Grasos Esenciales, como lo son los Omega 3, Omega 6 y Omega 9.
- ✓ Estos aceites al ser absorbidos y asimilados por nuestro organismo favorecen el incremento y la agilización de las diferentes funciones cerebrales que se encuentran estrechamente ligadas a la memoria, la inteligencia y el razonamiento.
- ✓ Además, estimula el fortalecimiento del sistema de defensas, favorece el mejor funcionamiento del sistema digestivo y fortifica los huesos y el sistema óseo en general.
- ✓ Debido a los beneficios del Sacha Inchi, su inclusión en la dieta alimenticia de niños, jóvenes, adultos y mujeres gestantes resulta ideal gracias a su rico contenido de vitaminas, minerales y nutrientes naturales.
- ✓ Contribuye a fortificar el corazón y a mantener estable la presión arterial.
- ✓ Favorece la reducción del nivel del colesterol malo en la sangre y facilita el transporte de nutrientes por todo el organismo.
- ✓ Recientes estudios han reportado que el Aceite Sacha Inchi Extra Virgen, ayuda a reducir los niveles de colesterol malo en la sangre y tonifica el corazón, colaborando en la disminución de problemas cardiovasculares.
- ✓ Brinda energía y estimula un correcto metabolismo.
- ✓ Estimula la reducción de colesterol malo en la sangre.

1.2 CONSIDERACIONES TEÓRICAS

1.2.1 INFLAMACIÓN

1.2.1.1 DEFINICIÓN

La inflamación representa un proceso fisiopatológico fundamental para eliminar estímulos lesivos al organismo vivo. Este proceso es característicamente independiente de la naturaleza del estímulo causante de la lesión (físico, químico o biológico). Se observa inicialmente, dilatación y engorgamiento de los vasos del área afectada, principalmente capilares y arteriolas, con aumento del flujo sanguíneo. Estos fenómenos determinan la aparición de eritema localizado y del aumento de la temperatura en el área. Por lo que después, ocurre rebosamiento de plasma y proteínas plasmáticas hacia el tejido intersticial, con consecuencia formación de edema.⁽²⁸⁾

Fenómenos subsecuentes constituyen la migración leucocitaria y la actividad fagocitaria por células competentes. Todas estas alteraciones son acompañadas de dolor en el área afectada.

Ese carácter estereotipado originó el concepto de mediación química de la respuesta inflamatoria, según el cual las alteraciones fisiopatológicas desencadenantes por el estímulo lesivo son la expresión de las acciones farmacológicas de sustancias endógenas liberadas o activadas, en el transcurso del proceso. Dentro de los mediadores del proceso inflamatorio se han identificado: aminas vasoactivas (histamina), eucosanoides (metabolitos del ácido araquidónico - prostglandinas y leucotrienos), factor activador de plaquetas (PAF), citocinas (interleuquinas), cininas plasmáticas (bradicina), sistema de complemento y radicales libres, entre otros. Es sabido que una única señal inflamatoria pueda ser producida por un conjunto de mediadores actuando independiente y sinérgicamente, y que un mismo mediador puede ser activo en diferentes etapas de la respuesta inflamatoria. Es importante recordar que las acciones de los mediadores inflamatorios son esencialmente locales.⁽²⁸⁾

1.2.1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA INFLAMACIÓN⁽²⁸⁾

Los diferentes estímulos exógenos y endógenos pueden producir lesión tisular, que pueden dar lugar a una “reacción compleja en el tejido conjuntivo vascularizado denominado inflamación”

La respuesta inflamatoria está muy relacionada con el proceso de reparación. La inflamación es útil para destruir, atenuar o mantener localizado al agente patógeno y, al mismo tiempo inicia una cadena de acontecimientos que (dentro de lo posible) curan y reconstituyen el tejido lesionado.

La inflamación es fundamentalmente una respuesta de carácter protector, cuyo objetivo final es librar al organismo de la causa inicial de la lesión celular (p.ej., los microorganismos patógenos, las toxinas) y de las consecuencias de la misma (p' ej. Las células y restos titulares necróticos).

Si no existiera el proceso de inflamación, las infecciones se propagarían de forma incontrolada, las heridas no se curarían nunca y los órganos lesionados presentarían lesiones supurativas de forma permanente. “No obstante los procesos de inflamación y reparación pueden ser perjudiciales”. Por ejemplo, las reacciones inflamatorias constituyen el mecanismo patogénico básico de las reacciones de hipersensibilidad potencialmente mortales, secundarias al efecto de picaduras de insectos, fármacos o sustancias tóxicas, y también lo son de algunas de las enfermedades crónicas más frecuentes de la actualidad, como artritis reumatoide, la aterosclerosis y la fibrosis pulmonar.

La respuesta inflamatoria tiene lugar en el tejido conjuntivo vascularizado, e implica el plasma, las células circulantes, los vasos sanguíneos y los constituyentes celulares y extracelulares del tejido conjuntivo.

1.2.1.3 ETAPAS DEL PROCESO DE INFLAMACIÓN⁽²⁹⁾

1.2.1.3.1 Vasodilatación: Es la primera manifestación, clínicamente apreciable por aumento de la temperatura local, y que tiene por objeto incrementar el flujo sanguíneo a la zona afectada para asegurar un aporte suficiente de células y elementos plasmáticos útiles en la defensa.

1.2.1.3.2 Aumento de la permeabilidad Capilar: Permite que el incremento del flujo sanguíneo se convierta en aporte efectiva a nivel de los tejidos, con la llegada a ellos de una mayor cantidad de líquidos, que diluyan el elemento agresor o lo neutralicen por medio de sustancias como los anticuerpos, el complemento y los linfotoxinas. Por otra parte, la hipermeabilidad asegura un mayor flujo de granulocitos y monocitos, con lo cual se incrementa la fagocitosis. Estas células se marginan en los capilares, buscan intersticios entre las células endoteliales, y terminan por abandonar los vasos y entrar al espacio intersticial.

1.2.1.3.3 Quimiotaxis: El incremento en la concentración local de fagocitos se logra, no sólo por el aumento de la permeabilidad capilar, sino también por la presencia de factores quimiotáxicos, aparecen gracias a la activación del complemento, presencia de gérmenes o participación de otros mecanismos.

1.2.1.3.4 Infiltración Celular: Inicialmente predomina la concentración de neutrófilos, los cuales vez cumplida su función fagocitaria mueren, con lo cual liberan sustancias que incrementan la inflamación y activan a los macrófagos. Pasadas las primeras horas del proceso, empieza a presentarse un predominio de macrófagos, eosinófilos y basófilos. Si el agente tiene la propiedad de desencadenar una respuesta inmunológica, aparecerá un infiltrado linfocitario, responsable de variadas e importantes funciones.

- 1.2.1.3.5 Fagocitosis:** La concentración de granulocitos y monocitos amplifica la respuesta fagocitaria, parte importante del proceso inflamatorio.
- 1.2.1.3.6 Células Especiales:** Los basófilos, los mastocitos y los eosinófilos, representan células que tienen papel importante en el mecanismo de inflamación, como controles del proceso, directamente o mediante la liberación de sustancias mediadoras.
- 1.2.1.3.7 Basófilos y Mastocitos:** En términos prácticos, representan un mismo tipo de células, encontrándose los primeros, los basófilos, en el torrente circulatorio y los segundos, en forma más o menos fija en los tejidos. Estas células contienen en su citoplasma, gránulos de media micra de diámetro constituido primordialmente por un complejo de histamina y heparina, responsable de la coloración intensa de los gránulos basófilos.

La histamina se produce en la célula, por descarboxilación de la histidina y prácticamente toda la histidina – descarboxilaza que existe en el organismo se encuentra en los mastocitos. Por estímulos mecánicos o físicos, como frío, calor o radiaciones, o por drogas como aminas de bajo peso molecular, o por el efecto de algunas enzimas, la célula libera estos gránulos, por un proceso llamado degranulación, con lo cual queda en libertad, en el tejido intersticial, una gran cantidad de histamina. Dentro del proceso inmunológico, la degranulación de éstas se origina por la acción del antígeno sobre moléculas de anticuerpos tipo IgE, constituye un tipo de anticuerpos especiales de características citolíticas, que hacen que tan pronto sean producidos, se adhieren firmemente a la membrana celular de basófilos y mastocitos.

Esta molécula de IgE adherida a la superficie de la célula por el extremo de las cadenas pesadas, queda con los sitios de unión con el antígeno libre, en tal forma que al llegar éste nuevamente al organismo, es captado rápida y ávidamente por estos anticuerpos, que al estar fijos a la célula, desencadenan su degranulación. Este tipo de reacción es el responsable de las manifestaciones alérgicas en el humano, por cuanto directa o indirectamente la liberación de la histamina, lleva a la vasodilatación, traslación de líquidos al espacio intersticial y contracción de músculos lisos, reacción que en sus dos primeros componentes nos explica las manifestaciones presentes en los casos de urticaria y rinitis, y con la contracción de los músculos lisos, los ataques de asma bronquial de tipo alérgico. La histamina es una de las principales sustancias llamadas mediadores de la inflamación.

Actualmente se pueden reconocer sus 5 signos cardinales, que son:

- **Tumefacción.** Aumento del líquido intersticial y formación de edema.
- **Rubor.** Enrojecimiento, debido principalmente a los fenómenos de aumento de presión por vasodilatación.
- **Calor.** Aumento de la temperatura de la zona inflamada. Se debe a la vasodilatación y al incremento del consumo local de oxígeno.
- **Dolor.** El dolor aparece como consecuencia de la liberación de sustancias capaces de provocar la activación de los nociceptores, tales como las prostaglandinas. Constituye el 1^{er} signo de la tétrada de Celsius. (Los 4 signos → Tétrada de Celsius)
- **Pérdida o disminución de la función.** Llamado 5^{to} signo de Virchow (Función Laesa).⁽³⁰⁾

1.2.1.4 CÉLULAS DE LA INFLAMACIÓN⁽³¹⁾

Lo que caracteriza morfológicamente a una inflamación es la presencia en el foco de células de la sangre especialmente leucocitos polimorfonucleares, monocitos y linfocitos, y de otras células como células plasmáticas, fibroblastos y células endoteliales.

Los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos LPMN son las primeras células que llegan al foco inflamatorio, participan en la fagocitosis, liberación de enzimas y formación de factores quimiotácticos. Sus funciones principales son *la fagocitosis y la eliminación de los tejidos destruidos*. Los LPMN aparecen en gran cantidad y muy pronto en el foco inflamatorio. En los focos inflamatorios los LPMN muertos son el principal componente del pus. En general, la presencia de LPMN en un foco es indicativa de inflamación aguda.

Las células cebadas o mastocitos son basófilos residentes en los tejidos. El papel de estas células no está bien aclarado. Contienen histamina, heparina, 5-hidroxi-triptófano y otras enzimas, alguno similar a la quimiotripsina, los cuales evitan la coagulación en el foco inflamatorio y controlan la exudación. Es probable que tengan un papel en el desarrollo de inflamaciones secundarias a algunas reacciones de tipo inmune, en la fagocitosis y en la síntesis de colágeno. Las células cebadas son más abundantes en las inflamaciones de la piel y el mesenterio.

Los Monocitos son células fagocitarias por excelencia. Los monocitos sanguíneos son semejantes a los histiocitos tisulares, y ambos se convierten en macrófagos después de fagocitar cualquier sustancia. Aparecen precozmente en el foco inflamatorio, antes de las 48 horas, como respuesta a los mediadores liberados por lo LPMN.

La supervivencia de los monocitos fuera de la sangre es muy variable; en algunas inflamaciones crónicas los macrófagos quedan inmobilizados en el foco inflamatorio, donde pueden sobrevivir durante varios años. La activación de los macrófagos se facilita con la liberación de citoquinas (INF- γ) por los linfocitos T, el factor estimulante de las colonias de granulosis-macrófagos, el factor C5a, factores de crecimiento como PDGF y TGF $-\beta$, por el TNF liberado por los propios macrófagos en presencia de endotoxinas, y proteínas del espacio extracelular como la fibronectina.

Las funciones de los monocitos son principalmente la liberación de múltiples productos esenciales en la inflamación, la pinocitosis y la fagocitosis. Si la causa de inflamación es un material extraño de gran tamaño o no digerible, los monocitos se transforman en células multinucleadas gigantes.

Cuando los monocitos son incapaces de digerir a los microorganismos que han fagocitado, adquieren una forma estrellada con hiperplasia del retículo endoplasmático rugoso, aumento del número de mitocondrias, hiperplasia del aparato de Golgi muy desarrollado, núcleo ovalado y nucléolo central de gran tamaño, y se ordenan formando masas celulares sin apenas espacios intracelulares. Estas células, por su semejanza con las células epiteliales, se denominan células epitelioides. Con mucha frecuencia las células epitelioides tienen divisiones nucleares amitóticas y/o se fusionan para formar verdaderos sincitios similares o células gigantes, que rodean o engloban el cuerpo extraño.

Los **linfocitos** aparecen en el foco inflamatorio en fases tardías y tienden a acumularse alrededor de los vasos. Es posible que la activación de estas células se deba a un proceso de liberación de antígenos por los tejidos necróticos.

Los linfocitos suelen permanecer años en el foco inflamatorio, en gran parte por la activación de moléculas de adhesión, principalmente VLA-4, VCAM-1 e ICAM-1/LFA-1, que los adhieren a proteínas de la matriz extracelular.

Linfocitos y monocitos se estimulan recíprocamente para su persistencia en el foco, los primeros por la liberación de linfocinas (INF- γ) y los segundos por medio de citosinas.

Las células plasmáticas derivan de los linfocitos B, son células de mayor tamaño que los linfocitos. Las células plasmáticas liberan inmunoglobulinas. En los focos inflamatorios las células plasmáticas presentan alteraciones morfológicas como multinucleación, acumulación intracitoplasmática de inmunoglobulinas cristalizadas – cuerpos de Rusel – y cristales en los espacios intercelulares por precipitación de las inmunoglobulinas.

Junto con los linfocitos aparecen en la fase tardía de la inflamación, en enfermedades granulomatosas y en enfermedades producidas por virus y bacterias. Son especialmente abundantes en algunas inflamaciones como sífilis, artritis reumatoide, en enfermedad de Castleman e histiocitosis sinusal con linfadenopatía masiva.

Células endoteliales. La evidencia de que las células endoteliales no eran parte de SFM pareció que iba a quitarles importancia en la inflamación, sin embargo, las células endoteliales tienen un papel esencial en el desarrollo del proceso de la inflamación. El endotelio ha pasado en los últimos años de ser una célula prácticamente inerte, cuya función más importante era casi exclusivamente la de recubrir la pared de los vasos de forma pasiva, a ser considerada como una célula de gran versatilidad y con múltiples funciones en la circulación de la sangre, en la inflamación, en la inmunidad y en el desarrollo de tumores. En endotelio vascular responde a varios estímulos que hacen variar su función, metabolismo y estructura.

El papel más importante del endotelio en la inflamación está relacionado con la adherencia de los leucocitos y el paso de células y solutos fuera del vaso.

La presencia de IL-1, factor activador de plaquetas (FAP), prostaglandinas, PDGF, diversas fracciones del complemento y TNF y moléculas de adhesión, permiten la emigración de los leucocitos a través de las células endoteliales.

En el estadio precoz de la inflamación, las células endoteliales tienen un papel activo en la adherencia y paso de células por los espacios interendoteliales y diversas moléculas por los poros intracelulares. En la fase tardía, las células endoteliales proliferan para formar yemas vasculares, que junto con los fibroblastos y pericitos son el principal componente del tejido de granulación.

El papel más importante del endotelio en la inflamación está relacionado con la adherencia de los leucocitos y el paso de las células y solutos fuera del vaso. La presencia de IL-1, factor activador de pláquetas (FAP), prostaglandinas, PDGF, diversas fracciones del complemento y TNF y moléculas de adhesión, permiten la emigración de los leucocitos a través de las células endoteliales.

1.2.1.5 MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN⁽³²⁾

1.2.1.5.1 Histamina: Es la sustancia responsable de la primera respuesta de inflamación. Su liberación ocurre rápidamente después de que el agente agresor ha actuado, y el efecto de vasodilatación tiene lugar en segundos o minutos.

- 1.2.1.5.2 Serotomina:** Produce en varias especies animales, vasodilatación y aumento de la hipermeabilidad vascular, en forma similar a como lo hace la histamina. Su función en el humano es muy limitada en cuanto hace relación con la inflamación.
- 1.2.1.5.3 Kininas:** Con la histamina constituyen los factores más importantes en la inflamación. Están formadas por grupos de polipéptidos. Se han identificado cinco tipos diferentes, que tienen el poder de dilatar las arteriolas, aumentar la permeabilidad vascular, incrementar la marginación de los leucocitos dentro de los vasos, y producir dolor local; las dos kininas más importantes son la bradikinina y la licil-bradikinina o calidina. Circulan normalmente en el plasma en una forma inactiva llamada kininógeno, que al ser activada por la calicreína, libera las kininas. Posiblemente la histamina y el factor Hagerman, activa la calicreína para incrementar la producción de kininas.
- 1.2.1.5.4 Sustancia de Reacción Lenta de la Anafilaxia (SRS):** como su nombre lo indica, es un factor de actividad tardía. Sostiene o reemplaza a la histamina y a las kininas en su efecto de vasodilatación, pero primordialmente en el de contracción de los músculos lisos a nivel del sistema respiratorio. Cada día se le da mayor valor como factor importante en el desencadenamiento y sostenimiento del ataque asmático de tipo alérgico. Es producido por los neutrófilos.
- 1.2.1.5.5 Prostaglandinas:** Varias de las prostaglandinas parecen obrar como mediadoras de la inflamación a nivel pulmonar y especialmente como broncoconstrictoras. Las PGF_{2a} tienen poder constrictor en contraposición a las PGE_2 que es broncodilatadora.

1.2.1.5.6 Otros Factores: Algunas de las distintas proteínas del complemento y de los factores liberados por los linfocitos T, podrían obrar también como mediadores de la inflamación.

1.2.1.6 MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA INFLAMACIÓN Y DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA.⁽³³⁾

Para caracterizar los efectos inflamatorios de un producto se aplican las metodologías adecuadas a valorar los principales aspectos del proceso de la inflamación: Tumor (mediante modelos de edema: subplantar, pulmonar, auricular); Color (intensidad de eritema cutáneo); Dolor (contracciones abdominales, repuesta a la presión); Calor (piresis); Aumento de Permeabilidad Capilar (extravasación de colorante); Formación de Exudado (pleuritis experimental); Migración Leucocitaria (pleuritis, fagocitosis); Proliferación celular (fibroma, granuloma); Disfunción de Miembros (artritis aguda y crónica); Efecto Antiagregante Plaquetario (embolia pulmonar); así como algunas de las características del mecanismo de acción:

Directa o Indirecta (en animales suprarrenal ectomizados); Preventiva, Curativa o Inmunosupresora (artritis crónica); Inhibición de Mediadores (valoración en exudados); Acción Tópica o Sistémica (edema auricular); Mecanismo Central o Periférico (administración intra-cerebro-ventricular).

Existen varios modelos "in vivo" que son utilizados para los ensayos de compuestos con efecto antiinflamatoria. Dentro de los parámetros normalmente validados está el modelo de edema, alteraciones de permeabilidad capilar, migración leucocitaria. Estas técnicas de screening son generalmente independientes del compuesto a ser ensayado, también está el modelo crónico de la formación de granuloma subcutáneo en la rata provocado por la implantación de pellets de algodón en la región interescapular. A pesar de que la mayoría de las veces no se llega a determinar un mecanismo de acción definitivo del extracto de prueba, estos

modelos experimentales son de gran importancia y representan el punto de partida para la caracterización farmacológica de nuevas drogas capaces de inferir con el curso de la inflamación.^(33, 34)

El efecto antiinflamatorio que probablemente pueda ejercer una sustancia va a depender específicamente de la influencia que pueda ocasionar sobre los fenómenos desencadenantes del proceso inflamatorio que intervienen en los diferentes modelos de inflamación.⁽³³⁾

1.2.1.6.1 Modelo Granuloma inducido por Pellet de Algodón: Consiste en evaluar la acción antiinflamatoria que involucran el uso de granulomas por cuerpos extraños. La implantación subcutánea de un pellet de algodón en ratas resulta en la formación de un granuloma en el sitio del implante.

Los primeros eventos ocurren en la vecindad del pellet de algodón y resultan en la generación de sustancias quimiotácticas para neutrófilos y monocitos, las cuales pueden ser productos del sistema de complemento, el sistema de cinina o la generación de productos de la oxidación del ácido araquidónico. Esta primera fase comprende una acumulación de fluido y material proteico junto con una infiltración de neutrófilos. El granuloma formado por 6 días es caracterizado por la formación de una cápsula fibrosa vascularizada que contiene fibroblastos y células mononucleares las cuales son ricas en N-acetil- β -D-glucosaminidasa (NAG), marcador de enzimas lisosomales. Una activa infiltración de células polimorfonucleares (PMN) también caracteriza esta fase del proceso inflamatorio.⁽³⁵⁾

1.2.1.7 PATRONES DE LA INFLAMACIÓN

1.2.1.7.1 Inflamación Aguda: Es una respuesta rápida ante un agente agresor que sirve para liberar mediadores de defensa del huésped – leucocitos y proteínas plasmáticas en el sitio de lesión. La inflamación aguda tiene tres componentes mayoritarios: 1). Alteraciones en el calibre vascular que dan lugar a un aumento en el flujo sanguíneo; 2). Cambios estructurales en la microvasculatura que permiten que las proteínas plasmáticas y los leucocitos abandonen la circulación y, 3). Migración de los leucocitos desde la microvasculatura, su acumulación en el foco de la lesión y su activación para la eliminar el agente ofensor ⁽³⁵⁾.

1.2.1.7.2 Inflamación Crónica: Es una respuesta de duración prolongada (semanas o meses) en la cual la inflamación es activa, hay destrucción tisular e intento de reparación se suceden simultáneamente. Aunque puede seguir la inflamación aguda, con frecuencia la inflamación crónica empieza insidiosamente, con bajo grado, progresando solapadamente, a veces como respuesta asintomática ⁽³⁵⁾.

1.2.1.7.3 Inflamación Granulomatosa: Es un patrón distintivo de reacción inflamatoria crónica caracterizada por acumulación focal de macrófagos activados que con frecuencia desarrollan una apariencia semejante al epitelio (epiteliode). Un granuloma es un foco de inflamación crónica que consiste en la agregación microscópica de macrófagos que se transforman en células semejantes a las epiteliales rodeadas por un collar de leucocitos mononucleares, principalmente linfocitos y ocasionalmente células plasmáticas. ⁽³⁴⁾ Los granulomas más antiguos se desarrollan dentro de un anillo de fibroblastos y tejido conectivo. Frecuentemente, las células epitelioides se funden para formar células gigantes en la periferia o a veces en el centro de los granulomas. ⁽³⁵⁾

Existen dos tipos de granulomas que difieren en su patogenia, que son los granulomas de cuerpo extraño, relativamente inertes y los granulomas

inmunitarios que están producidos por partículas insolubles, típicamente microbios, capaces de producir una respuesta inmunitaria celular.⁽³⁵⁾

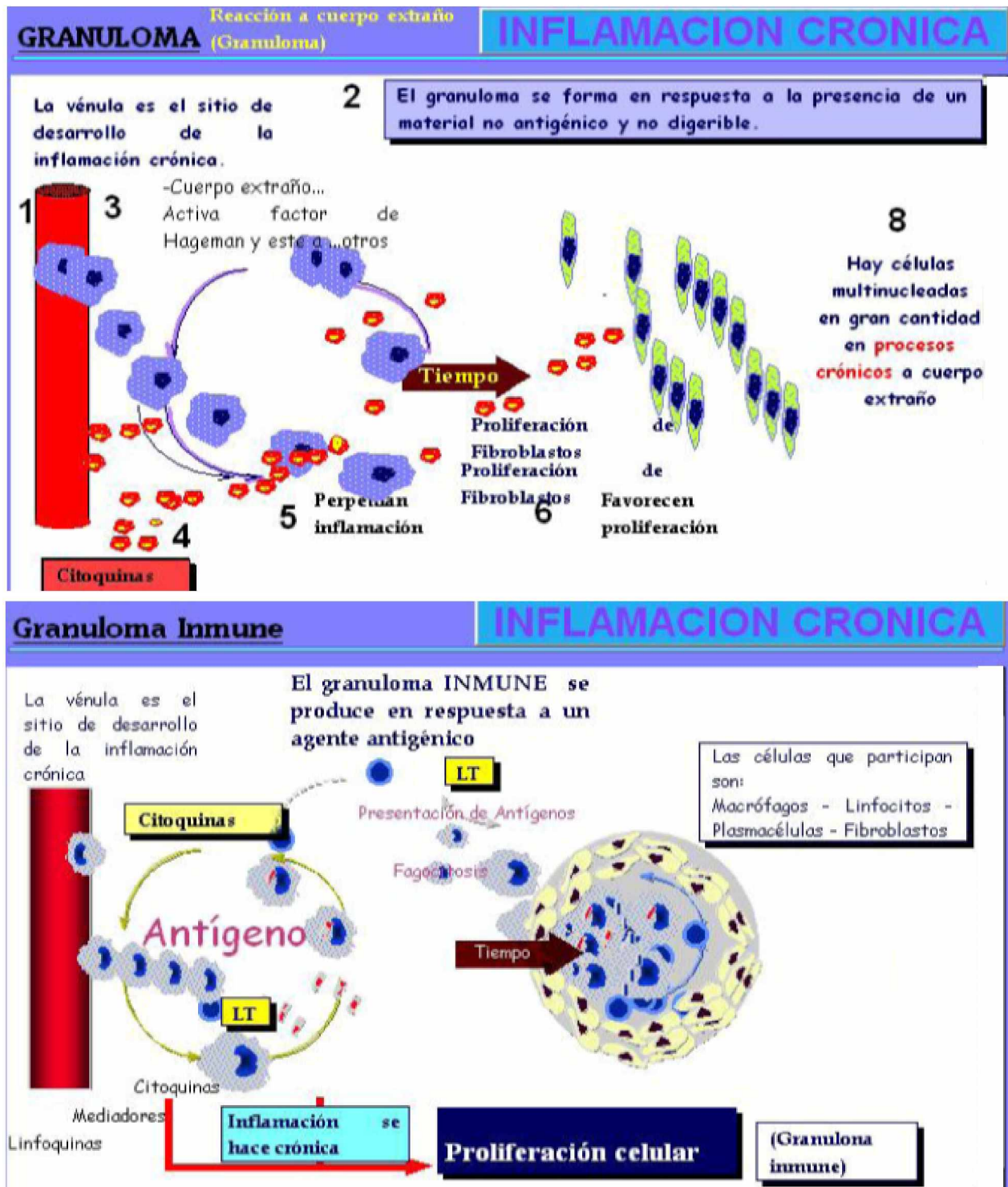


Figura N° 07: Inflamación Granulomatosa

1.2.1.8 INDOMETACINA

La Indometacina, introducida a la práctica clínica desde 1963, es un derivado del indol. Es un inhibidor no selectivo potente de la COX y también puede ser inhibidor de fosfolipasa A y C, reducir la migración de los neutrófilos y disminuir la proliferación de células T y B.

La administración del probenecid prolonga la vida media de la Indometacina al inhibir la depuración renal y biliar. Difiere algo de otros AINEs en sus indicaciones y perfil toxicológico.⁽³⁶⁾

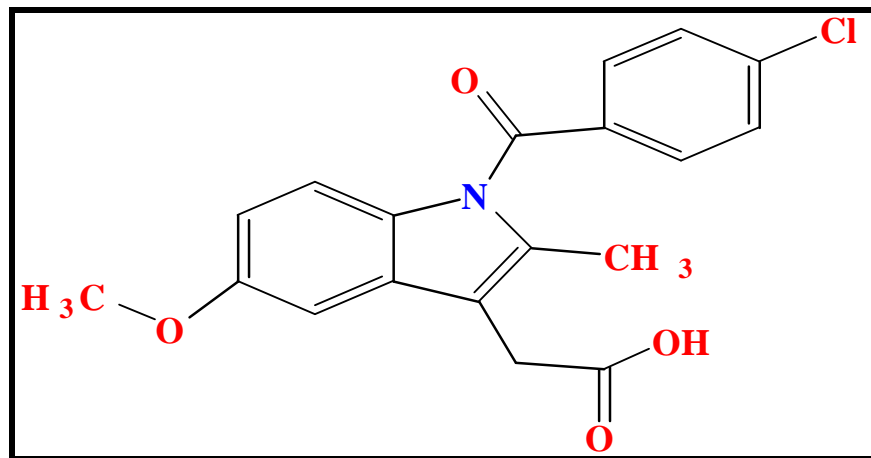


Figura N° 06. Estructura Química de la Indometacina

La Indometacina tiene las indicaciones comunes de uso en el tratamiento de enfermedades reumáticas, y es particularmente popular para el tratamiento de la gota y la espondilitis anquilosante. Además, se ha usado en el tratamiento del conducto arterioso persistente.

La Indometacina ha sido probada en numerosos estudios clínicos no controlados o estudios pequeños para muchos trastornos, incluyendo el síndrome de Sweet, artritis reumatoide juvenil, pleuresía, síndrome

nefrótico, diabetes insípida, vasculitis urticarial, dolor, dolor posepisiotomía y profilaxis de la osificación heterotópica en artroplastia.⁽³⁶⁾

En dosis altas, al menos 33% de los pacientes tienen reacciones a Indometacina que requieren la suspensión del medicamento. Los efectos gastrointestinales pueden incluir dolor abdominal, diarrea, hemorragia gastrointestinal y pancreatitis.

Se han reportado reacciones hematológicas graves, incluyendo trombocitopenia y anemia aplásica, así como hiperpotasemia, y se relaciona con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas renales. También se ha observado necrosis papilar renal. Se han reportado numerosas interacciones con otros medicamentos.⁽³⁶⁾

1.2.1.9 ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS^(45,46)

Los **antiinflamatorios no esteroideos** – **AINEs** - son sustancias químicas con efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético por lo que reducen los síntomas de la inflamación, alivian el dolor y la fiebre respectivamente. El término no-esteroideo se refiere a que los efectos clínicos son similares a los de los corticosteroides, pero no originan los efectos colaterales que caracterizan a los corticosteroides. Como analgésicos se caracterizan por no pertenecer a la clase de los narcóticos ya que actúan bloqueando la síntesis de prostaglandinas.

1.2.1.9.1 ORIGENES HISTORICOS

@ Hipócrates (460 - 377 aC) y Celsus en el año 30 aC usaron la corteza de sauce para disminuir los signos de la inflamación.

@ En 1761 el Edmund Stone describió el efecto antipirético de la corteza de sauce.

- @ En 1829 Leroux aisló al glucósido salicina a partir del tronco del sauce.
- @ En 1869 Kolbe consiguió sintetizar el salicilato. Por hidrólisis, la salicina libera glucosa y alcohol salicílico que luego puede ser convertido en ácido salicílico.
- @ Entre 1893 y 1897 el alemán Félix Hoffman-Bayer, convirtió el Ácido Salicílico en Ácido acetilsalicílico, denominándosele Aspirina.
- @ En el Siglo XX, a partir de la década del 50, surgió el resto de los Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs).
- @ En 1990 Needleman y en 1991 Xie identificaron la COX inducida (COX-2) como una isoforma distinta a la COX-1 descrita por Vane en 1976. Este descubrimiento, explicó que las acciones antiinflamatorias se deben a la inhibición COX-2 (inducible), mientras que los efectos adversos están relacionados con la inhibición de la COX-1.

1.2.1.9.2 FARMACODINÁMICA DE LOS AINES: MECANISMO DE ACCIÓN^(45,46)

La acción principal de todos los AINEs es la inhibición de la ciclooxigenasa, y por consiguiente, la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos, y algunos leucotrienos los cuales son mediadores de la inflamación. El mecanismo implicado es el bloqueo del túnel y bloqueo del ingreso del ácido araquidónico hacia el sitio activo de la COX. Se distinguen cuatro mecanismos de acción diferentes para inhibir la actividad de la COX:

- El AAS inactiva la COX de forma irreversible al acetilar al residuo de Serina 530 y dejar el resto de salicilato en el interior del túnel.
- El ibuprofeno actúa compitiendo de modo reversible por el sitio de unión con el sustrato (ácido araquidónico) en el túnel.
- El flurbiprofeno y la indometacina originan inhibición lenta, tiempo-dependiente de la COX-1 y la COX-2. En estos complejos existe

interacción electrostática entre el grupo carboxilato (cargado negativamente) de los inhibidores y la Arginina 120 (cargada positivamente) presente en el canal, y que supuestamente sirve para atraer al sustrato de ácido araquidónico durante la catálisis. La cavidad donde se unen estos inhibidores tradicionales a la COX-1 está limitada por la cadena lateral de la isoleucina-523.

- La presencia de valina en la COX-2 en la posición ocupada por Ile-523 en la COX-1 permite a algunos inhibidores (como nimesulida) acceder a una cavidad adyacente al sitio activo y establecer interacciones adicionales con otros residuos de la enzima, por ejemplo la arginina que sustituye a la histidina en la posición 513. De este modo actúan como inhibidores débiles de COX-1 pero inhiben la COX-2 de forma lenta y tiempo-dependiente. Con esta inhibición selectiva de COX-2 se espera que este tipo de fármacos sean capaces de bloquear la inflamación sin dar lugar a las toxicidades gastrointestinal y renal características de los AINEs tradicionales que probablemente son el resultado de la inhibición de la COX-1.

La inhibición de la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos por los AINEs es responsable de su actividad terapéutica y de los varios efectos tóxicos de este grupo de fármacos. Al inhibir a la ciclo-oxigenasa y la subsecuente síntesis de prostaglandinas, se reduce la liberación de sustancias y mediadores pro-inflamatorios, previniéndose la activación de los nociceptores terminales. De modo que los AINEs alivian el dolor asociado con la inflamación. Los AINEs actuales no pueden inhibir la vía de la lipo-oxigenasa por lo que continúan formándose leucotrienos y otros mediadores activos, lo que explica la limitación de éstos fármacos para controlar los procesos en los que intervengan numerosos mediadores. El hecho de que los AINEs no produzcan sueño, ni alteren el humor, ni provoquen alteraciones en la conciencia se debe a que su sitio de acción es el hipotálamo.

1.2.1.9.2.1 Efectos Celulares y Moleculares de la Acción de los AINEs incluyen^(45,46):

- 1. Interfieren con la activación de los neutrófilos:** En virtud de su alta liposolubilidad, los AINEs alteran la viscosidad de las membranas celulares. De esta manera, los AINEs, no sólo inhiben la síntesis de PGI₂, Leucotrieno E₄, y Factor del Complemento C5a, sino que bloquean la unión de estas moléculas a sus receptores, impidiendo la activación de segundos mensajeros e inhibiendo la capacidad de adherencia de los leucocitos polimorfonucleares (PMN), basófilos, eosinófilos y especialmente neutrófilos, así como bloqueo de la quimiotaxis (migración hacia el tejido lesionado) y la agregación plaquetaria.
- 2. Bloquean la síntesis de bradicinina y estimulan la síntesis de óxido nítrico-GMPc:** A nivel de los nociceptores existe un equilibrio entre el sistema simpático (Adrenalina-AMPC) y el sistema parasimpático (Acetilcolina-GMPc). Un estímulo nocivo provoca la liberación de bradicinina y precalicreína, las cuales, estimulan la liberación de PGE₂ y adrenalina, provocando la síntesis y aumento del AMPC. De esta manera se rompe el equilibrio simpático/parasimpático y aparece el dolor. Los AINEs originan a) Inhibición de la síntesis de PGE₂, b) Bloquean, la liberación de bradicinina y precalicreína, c) Estimulan la síntesis de óxido nítrico originando incremento de GMPc, y, d) Disminuyen la sensibilidad de las terminales nerviosas y del endotelio a la acción de las cininas. De esta manera se restablece el equilibrio AMPC/GMPc a nivel del nociceptor y desaparece el dolor.
- 3. Bloquean la liberación de citocinas:** Los AINEs inhiben indirectamente la liberación de citocinas por parte de los leucocitos PMN al bloquear la síntesis del factor de necrosis tumoral α , e interleucinas IL-1 e IL-4 leucocitarias, de esta manera inhiben la quimiotaxis de basófilos, eosinófilos y especialmente neutrófilos y macrófagos, así como la proliferación de fibroblastos.

4. **Bloquean la síntesis y expresión de Canales Iónicos Sensibles a Ácido (ASICs).** Los canales sensibles al pH emiten señales de dolor al producirse un incremento de la concentración de H⁺. Los AINEs inhiben el dolor al bloquear a los ASICs durante la acidosis inducida por los procesos inflamatorios. El mecanismo se ejerce en el SNC a través de:
 - a) Inhibición de la síntesis de PG que disminuye el procesamiento de mensajes del dolor.
 - b) A nivel medular interfiere con los receptores de la sustancia P y a nivel supramedular activa las vías supraespinales nociceptivas inhibitorias.
5. **Bloquean la síntesis de radicales de oxígeno y metabolitos citotóxicos** por parte de los PMN
6. **Bloquean la síntesis de aminas vasoactivas** (histamina y serotonina) que favorecen el incremento de permeabilidad vascular, producidas en plaquetas, mastocitos y basófilos.
7. **Bloquean la síntesis de linfocina** por parte de los linfocitos T e inhiben la actividad de los linfocitos inmuno-supresores OKTB.
8. **Alteran el metabolismo de la glucosa:** aumentan el consumo de glucosa y la producción de lactato; además inhiben a la deshidrogenasa láctica y alcoholica y a la 6-fosfofructoquinasa de la glicólisis y la vía de las pentosas, reduciendo la producción de ATP mitocondrial y AMPc. Interfieren además en la actividad de diversas reacciones anabólicas relacionadas con la síntesis de glicosaminoglicanos, glicoproteínas colágeno del tejido conjuntivo.
9. **Modifican el equilibrio ácido-base:** los salicilatos estimulan directamente el centro respiratorio a concentraciones elevadas, favoreciendo la alcalosis respiratoria.
10. **Los Salicilatos y el Ibuprofeno,** pero no el acetaminofén, son capaces de inhibir la prostaglandina E2 mediante la reducción de la translocación nuclear del NF-κB con la consecuente reducción en la expresión de la COX-2.

1.2.1.9.3 ACCIONES FARMACOLÓGICAS DE LOS AINES^(45,46)

1) ACCIÓN ANALGÉSICA: Moderada

Los AINEs son eficaces en la reducción del dolor: mialgias, artralgia, odontalgia, dolores viscerales, cefalea, traumatismos y neoplasias. Los AINEs inhiben la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central y periférico. **A nivel periférico** bloquean la hipersensibilidad de los nociceptores, pero, mantienen, al mismo tiempo, el umbral fisiológico de respuesta a los estímulos nociceptivos. **A nivel central**, los AINEs estimulan la liberación de neurotransmisores inhibidores del dolor como la serotonina. Son eficaces en cuadros dolorosos con componente inflamatorio crónico o agudo. Son más antiálgicos que analgésicos en razón que no bloquean las PG ya liberadas. Tienen efecto de dosis techo, lo cual significa que por encima de la dosis máxima no aumenta el efecto analgésico, pero sí los efectos secundarios. La utilización combinada de más de un AINE no tiene efecto aditivo, por lo tanto **no se deben asociar**, ya que no aumentan el efecto analgésico, pero sí los efectos secundarios. La respuesta individual es variable.

Los AINEs regulan la baja del sitio modulador del complejo NMDA-canal iónico. Abolición de la inducción de genes de expresión temprana

2) ACCIÓN ANTITÉRMICA:

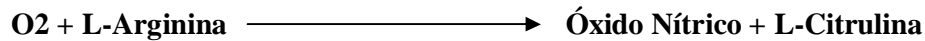
En los procesos febriles, los AINEs inhiben la síntesis de la PGE₂ y del factor de necrosis tumoral α en el órgano vascular de la lámina terminal del núcleo preóptico de la región anterior del hipotálamo, regulando el umbral térmico hacia su punto fijo basal. La vuelta de la temperatura al umbral basal en el núcleo preóptico hipotalámico origina una diferencia con la temperatura del resto del cuerpo la cual aún se encuentra elevada, originando la estimulación de las fibras aferentes del sistema nervioso para-simpático y la consecuente

vasodilatación de las arteriolas periféricas y pérdida del calor por sudoración a través de la piel, disminuyendo de este modo la temperatura corporal hasta su estado basal normal.

2.1 MECANISMO DEL DESCENSO DE LA TEMPERATURA: PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO O FACTOR RELAJANTE DERIVADO DEL ENDOTELIO

1. El bloqueo de la síntesis de PGE₂ por la acción de los AINEs, devuelve la temperatura al punto basal del umbral térmico del hipotálamo, creando una diferencia entre temperatura corporal, aún incrementada y el nuevo umbral basal del hipotálamo, ello origina la estimulación del sistema nervioso parasimpático aferente y la consiguiente liberación de acetilcolina. La acetilcolina se une a su receptor M₁ en la membrana de las células endoteliales de los capilares arteriolas periféricas, originando un cambio de conformación en la estructura molecular del receptor M₁ abriendo las compuertas de los canales de sodio y potasio operados por ligando, produciéndose despolarización por el ingreso masivo de sodio al intracelular y salida lenta de potasio al extracelular.
2. El incremento de la concentración del sodio en el compartimiento intracelular de las células del endotelio vascular, origina la despolarización de la membrana del retículo sarcoplasmático y apertura de los canales transportadores de Ca²⁺, por lo tanto se incrementa la concentración de Ca²⁺ en el interior del citoplasma de las células endoteliales.
3. El Ca²⁺ se acopla con la enzima calmodulina y se forma el complejo Ca²⁺/calmodulina activado. El complejo Ca²⁺/calmodulina activado se une a la enzima **óxido nítrico sintetasa** y activa a la unidad catalítica de esta enzima.
4. La enzima óxido nítrico sintetasa en presencia de los cofactores: Ca²⁺; flavina; adenina dinucleótido (FAD); nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH); o Tetrahydrobiopterina (TH₄BP), cataliza síntesis del óxido nítrico mediante la siguiente reacción de óxido-reducción:

Óxido Nítrico Sintetasa



5. A continuación el óxido nítrico es liberado hacia el espacio intersticial desde donde difunde hacia la membrana de las células del músculo liso vascular. En la membrana de las células del músculo liso vascular, el óxido nítrico, estimula a la enzima guanililciclase que se encuentra en la membrana gracias a la interacción de la guanililciclase con los grupos prostéticos hemo del óxido nítrico. La guanililciclase activada degrada, por hidrólisis, al trifosfato de guanosina (GTP) en 3', 5'-GMP cíclico + pirofosfato.
6. Luego el GMPc estimula a la enzima Miosino-fosfatasa originando desfosforilación (inactivación) y separación de los puentes cruzados de actina y miosina y por consiguiente relajación del músculo liso y vasodilatación arteriolar, extravasación del líquido al espacio extracelular y eliminación en forma de sudor a través de la piel.

3) ACCIÓN ANTIINFLAMATORIA

INFLAMACIÓN AGUDA: Los AINEs inhiben la síntesis de $\text{PG F}_{2\alpha}$ y bloquean la secuencia de las señales extracelulares del proceso inflamatorio agudo al interferir con diversas funciones de los neutrófilos: adhesividad, agregación, quimiotáxis, degranulación y generación de radicales de oxígeno.

INFLAMACIÓN CRÓNICA: El mecanismo antiinflamatorio de los AINEs se produce por la inhibición de la síntesis de prostaglandina $\text{PGF}_{2\alpha}$, bloqueo de las fases iniciales de la acción de PMN y bloqueo de directo o indirecto de la acción de los mediadores químicos de la inflamación.

4) ACCIÓN ANTIAGREGANTE PLAQUETARIA.

Se realiza por el bloqueo de la síntesis de prostaglandina I₂. Pero existe una gran diferencia de la acción antiagregante plaquetaria entre todos los AINEs

5) ACCIÓN URICOSÚRICA

Por inhibición competitiva del transporte de ácido úrico desde la luz de los túbulos renales hasta el intersticio medular renal principalmente los Salicilatos, la sulfpirazona y la fenilbutazona.

1.2.1.9.4 CONSIDERACIONES ESPECIALES SOBRE EL USO DE AINES^(45,46)

Ü **ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.** La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la pérdida de neuronas y sinapsis en la corteza del hipocampo y otras áreas de la corteza cerebral, causando demencia, alteraciones de las capacidades cognitivas, memoria, y otras funciones. Esto se debe a destrucción celular por la acumulación de placas seniles extracelulares beta amiloides. La enfermedad se presenta cuando el nivel de pérdida de la masa neuronal sobrepasa las capacidades compensatorias de otros circuitos cerebrales.

La vía metabólica que produce la sustancia beta-amiloide está mediada por mecanismos de estrés oxidativo e inflamatorios. Las prostaglandinas implicadas en la reacción inflamatoria originan cambios degenerativos, fundamentalmente la PGA₁ que contribuye a la degeneración y muerte neuronal.

Los inhibidores selectivos COX-2 resultan importantes, por su tolerancia, en pacientes ancianos y son agentes de elección para manejo a largo plazo. Los AINEs reducen la hiperactividad de factores transcripcionales, responsables de la iniciación de la transcripción de genes proinflamatorios. Por otro lado, los AINEs COX-2 protegen a las neuronas de forma directa al reducir las respuestas celulares al glutamato.

Ü **QUIMIOPREVENTIVOS.** Los inhibidores de la COX-2 pueden utilizarse como quimiopreventivos. La COX-2 se expresa en la angiogénesis tumoral y en células neoplásicas de cáncer de colon, esófago, vejiga, próstata, pulmón, piel y mama. La expresión de COX-2 se encuentra elevada hasta en el 90% de las neoplasias de colon y hasta en el 40% de los adenomas de colon. EL AAS y otros AINEs son los más utilizados en la quimiopreención del cáncer de colon.

Ü **TROMBOSIS.** Los inhibidores de la COX-2 no bloquean la síntesis del tromboxano A₂, el cual es un agregante plaquetario y es un vasoconstrictor, lo que aumenta el riesgo de trombosis. Además la síntesis de PGI₂ (vasodilatador) es bloqueada por el inhibidor COX-2 en los tejidos vasculares, por lo tanto los inhibidores de la COX-2 tienen un efecto aditivo hacia la vasoconstricción y la trombosis.

1.2.1.9.5 FARMACOCINÉTICA DE LOS AINES^(45,46)

Ü **ABSORCIÓN**

Los AINEs son ácidos débiles con un pKa menor a 5 y permanecen disociado a un pH 2 unidades por encima de su pKa. Poseen una rápida y buena absorción. No hay cambios en su biodisponibilidad por los alimentos.

La velocidad de absorción de AINEs se reduce con los alimentos, sin embargo aunque el AINE tarda más en absorberse, el total absorbido no disminuye. Por lo tanto se recomienda su administración con alimentos o antiácidos para minimizar el efecto negativo sobre la mucosa gástrica, sobre todo en tratamientos prolongados.

Ü **BIOTRANSFORMACIÓN**

El metabolismo del AINE es fundamentalmente hepático, a través de mecanismos de fase I y II, principalmente glucoronidación.

Los AINEs se metabolizan por vía hepática, presentando escaso efecto de primer paso. Por lo general, son altamente metabolizados, bien siguiendo la fase I y luego la fase II o bien directamente a la glucuronidación. La mayoría son metabolizados por la familia enzimática del citocromo P450.

Ü DISTRIBUCIÓN

Los AINEs tienen buena distribución por difusión pasiva, pH-dependiente, y presentan gran liposolubilidad.

Ü BIODISPONIBILIDAD

Tienen buena biodisponibilidad presentan elevada unión a proteínas plasmáticas (98%), excepto el Diclofenaco que 54% y la aspirina que tiene 70%. Como la unión proteica es reversible y extensa el volumen de distribución es muy pequeño.

Debido a que la unión proteica es saturable, a medida que la dosis aumenta, la concentración plasmática del naproxeno, salicilato, fenilbutazona y posiblemente el Ibuprofeno aumentan de manera no proporcional a como iban en aumento a dosis bajas.

Ü TIEMPO DE VIDA MEDIA

La vida $\frac{1}{2}$ es muy variable por lo que se los divide en dos grupos:

Vida $\frac{1}{2}$ corta (<6hs): AAS, Diclofenaco, Etodolaco, Fenoprofeno, Ibuprofeno, Indometacina, Ketoprofeno.

Vida $\frac{1}{2}$ larga (>6hs): Nabumetona, Naproxeno, Fenilbutazona, Piroxicam y Sulindac.

Ü EXCRECIÓN

La excreción renal es la vía más importante de su eliminación. La mayor parte del AINE es eliminado en forma de metabolitos inactivos. Los AINEs además, presentan en grado

variable excreción biliar al presentar efecto de primer paso hepático (resorción por recirculación entero-hepática).

1.2.1.9.6 EFECTOS COLATERALES DE LOS AINES^(45,46)

✓ **SISTEMA NERVIOSO CENTRAL:**

Los AINEs pueden causar, especialmente en niños, síntomas del sistema nervioso central como irritabilidad, cefaleas, mareos, acúfenos y somnolencia. Con AAS a dosis altas superiores a 2 g/día, se puede observar **salicilismo**: tinnitus, disminución de la audición y vértigo. Con el ibuprofeno se puede observar disfunción cognitiva, irritabilidad y pérdida de memoria, alcalosis respiratoria e hiperventilación. Además, el ibuprofeno puede causar una meningitis aséptica en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

Un efecto secundario subestimado es la fotosensibilidad caracterizada por la paradójica inflamación causada por estos antiinflamatorios en presencia de la luz solar. Los implicados más frecuentes son los derivados del ácido propiónico, aunque otros AINE como el piroxicam, diclofenaco y la benzidamina también han reportado este tipo de reacciones.

A pesar del riesgo de fotosensibilidad de algunos AINE, otros como el ketorolaco vienen en presentaciones oftálmicas para el alivio de la inflamación e irritación ocular causadas por alergias o después de una cirugía.

✓ **PLEUROPULMONAR**

Más frecuente con AAS. Ciertos individuos manifiestan intolerancia a los AINE en la forma de broncoespasmo, rinitis con secreción nasal hialina profusa, urticaria generalizada, asma bronquial, edema laríngeo, hipotensión y choque. Aunque es raro en niños, el síndrome puede ocurrir hasta en un 25% de pacientes de edad media con asma o pólipos nasales, aún con dosis bajas de aspirina u otros AINEs.

✓ **FUNCIÓN CARDIOVASCULAR**

La mayoría de los AINE presentan como efecto secundario un aumento de los niveles de la tensión arterial, tanto en sujetos sanos como en hipertensos previos. Los mecanismos por los cuales ocurre esta hipertensión no están totalmente esclarecidos. Por lo general causan una elevación de 5 mmHg en la presión arterial, por lo que no deben ser administrados en pacientes con cifras tensionales altas. La acumulación de las evidencias demuestran que el uso de AINEs no salicilatos aumentan considerablemente el riesgo de infarto de miocardio e insuficiencia cardíaca en pacientes susceptibles, sin que se haya demostrado un efecto sobre la aparición de derrame cerebral.

✓ **FUNCIÓN RENAL**

Al inhibir la COX-1 se reduce la producción intrarrenal de prostaglandinas vasodilatadoras (prostaglandinaE2 y prostaglandinaI2), reduciendo el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular conllevando a la retención de sal y agua. Los AINEs suprimen la liberación de renina, y la cascada de activación renina-angiotensina-aldosterona se interrumpe. Sin embargo la hipertensión se puede agravar por la mayor conversión extrarrenal de angiotensina I en angiotensina II y la liberación de aldosterona. Los AINEs contrarrestan el efecto hipotensor de diuréticos, betabloqueadores, IECA, prazosina o la hidralacina porque parte de su acción hipotensora la ejercen estas sustancias a través de la liberación de prostaglandinas renales. Estas alteraciones se relacionan también con la hiperpotasemia que desencadenan estos fármacos pudiendo llegar a ser muy grave. La disminución de la secreción de aldosterona conlleva una menor secreción de potasio y, con ello, menor intercambio con el sodio que tiende a retenerse; de aquí se deriva también esa acción hipertensora de los antiinflamatorios no esteroideos. La indometacina es uno de los AINEs más relacionado con el efecto hiperpotasémico.

La inhibición de las prostaglandinas renales puede también tener como consecuencia lesiones orgánicas en el riñón, especialmente si se combinan con otras patologías nefrotóxicas como: enfermedad renal previa, enfermedades cardiovasculares, cirrosis y ascitis, por la disminución del volumen circulante, diabetes mellitus y degeneración senil.

Las lesiones son tan características que se definen como **glomerulonefritis por AINEs**.

Las alteraciones renales pueden ser de cuatro tipos:

- a) Alteraciones hidroelectrolíticas, son el resultado de la inhibición de la PGE2 sobre la ADH y el eje renina- angiotensina- aldosterona lo que lleva a un incremento de la absorción de Na⁺ y disminución de la secreción de K⁺.
- b) Síndrome nefrótico con nefritis aguda intersticial, es más frecuente en mujeres y ancianos, se debe a una reacción de hipersensibilidad que aumenta la permeabilidad vascular renal con la consiguiente proteinuria. La nefritis intersticial es más frecuente en mujeres y ancianos, y se debe a una reacción de hipersensibilidad que aumenta la permeabilidad vascular renal con la consiguiente proteinuria. En combinación con fenacetina, aspirina y/o paracetamol, por al menos 3 años, los AINE pueden causar nefropatía analgésica. Este trastorno es frecuente en pacientes que toman AINEs para el alivio de dolores musculares, artritis o cefaleas crónicas.
- c) Necrosis papilar es la lesión menos común pero más grave siendo en la afectación crónica renal más frecuente.
- d) Insuficiencia renal aguda.

La mayoría de las lesiones son reversibles si se diagnostica a tiempo y se suspende el tratamiento. Todos estos efectos se presentan en tratamientos prolongados en pacientes con patologías que cursan con hipovolemia, gasto cardíaco disminuido. Se observan en un 5% de los pacientes sanos y en el 20% de los pacientes de riesgo. Los factores de riesgo son: Enfermedad renal, insuficiencia cardíaca, diabetes, cirrosis hepática, ascitis, pacientes seniles, uso concomitante con diuréticos.

✓ **GASTROINTESTINALES**

Es el efecto adverso más frecuente. La mayoría de veces es leve y no da síntomas, pero pueden ser muy graves. La PGI2 o Prostaciclina, disminuye la secreción de ácido clorhídrico por las células principales del estómago y estimulan la síntesis del moco gástrico. Los AINEs bloquean la síntesis del PGI2, además producen lesión local que depende del pH de la luz, con retrodifusión ácida a la mucosa, reducen el flujo

sanguíneo de la mucosa, favoreciendo la lesión y afectan el funcionamiento de los neutrófilos induciendo la liberación de factores tisulares destructores.

La seguridad de los AINES depende de la biodisponibilidad, el tiempo de contacto con la mucosa gástrica y edad de los pacientes. Los factores predisponentes para estos efectos son: edad mayor a 60 años, uso de corticoides, antecedente de úlcera, tabaquismo, uso de AINES muy ulcerógenos. Pueden causar: Esofagitis, Úlceras (siendo sus complicaciones más frecuentes hemorragia y perforación), gastroduodenitis, lesiones tóxicas y enteropatías. La incidencia y el tipo de alteraciones difieren según el fármaco considerado.

✓ **HEPÁTICOS**

La incidencia de hepatotoxicidad por paracetamol está en aumento. En EUA y Reino Unido, la toxicidad por paracetamol representa el 50 % del total de intoxicaciones por medicamentos. En Reino Unido la intoxicación por paracetamol es la causa más común de insuficiencia hepática aguda. La hepatotoxicidad por AAS es dosis-dependiente. Las mujeres jóvenes con trastornos como fiebre reumática y artritis reumatoide juvenil parecen tener un riesgo más alto. El 50% de los pacientes que reciben dosis completas de AAS presentan elevaciones transitorias de las transaminasas hepáticas. El metamizol no origina hepatotoxicidad.

✓ **HEMATOLÓGICOS**

Los AINES originan disminución de la agregación plaquetaria. El AAS inhibe en forma irreversible a la ciclooxigenasa, por lo que a dosis-dependiente aumenta el tiempo de sangría. Los demás AINES tienen efectos reversibles. Este efecto puede ser beneficioso en el postoperatorio, sobre todo en los que pueden inducir tromboembolismos, e isquemia miocárdica con concentraciones aumentadas de TXA₂. Los AINES interfieren con la síntesis de protrombina. Además pueden producir agranulocitosis, neutropenia y anemia siendo mayor su frecuencia con el uso de metamizol.



1. HIPÓTESIS

- El aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 200, 400, 600 y 800 $\mu\text{l/Kg/pc}$ podría tener efecto antiinflamatorio, cuando se administra por vía oral a Ratas Albinas Machos mediante el Método de Granuloma inducido por pellets de algodón.

2. DEFINICIONES OPERACIONALES

3.1 Variable Independiente (X):

Ø Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” a dosis de 200, 400, 600 y 800 $\mu\text{l/Kg/pc}$.

3.2 Variable Dependiente (Y):

Ø Efecto antiinflamatorio del aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi”, según la dosis ensayada.

Ø Parámetros hematológicos en los grupos experimentales:

- ✓ Niveles de Hematocrito (%).
- ✓ Recuento Total de Leucocitos (mm^3).
- ✓ Recuento Diferencial (%).

Capítulo II Operacionalización de Variables



3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

CUADRO N° 03: Operacionalización de Variables Independientes

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA
Aceite de <i>Plukenetia volubilis</i> L. "Sacha Inchi".	Líquido viscoso, de color amarillo claro brillante de consistencia suigéneris. Aproximadamente 52% de la semilla contiene aceite, el cual más del 90% es insaturado.	Proceso adecuado para la extracción de este aceite, en el presente estudio, fue: pesado, seleccionado, triturado, descascarado, secado, (60° C - 9% humedad), tamizado, tratamiento térmico (en la extracción mecánica, el tratamiento térmico más adecuado se realizó empleando una temperatura de 105°C y un tiempo de 30 minutos), prensado y extracción por solventes, y filtrado.	- Dosis de 200, 400, 600 y 800 μ l/Kg/pc.	Intervalar Tipo: Cuantitativo

CUADRO N° 04: Operacionalización de Variables Dependientes – Efecto Antiinflamatorio

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA Y TIPO DE VARIABLE
<p>Efecto Antiinflamatorio del aceite de <i>Plukenetia volubilis</i> L. "Sacha Inchi" evaluadas en los dosis de 200, 400, 600 y 800 µl/Kg/pc.</p>	<p>Acción de inhibir o reducir la inflamación tras la administración de una sustancia.</p>	<p>Administración previa del aceite a evaluar y la determinación del porcentaje de inhibición de la inflamación mediante el peso de los pellets de algodón con el contenido fibrogranuloso (acumulación del fluido y material proteico acompañado de una inflamación de células comprometidas)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Promedio inflamatorio del contenido fibrogranuloso formado por acción de la implantación de pellets de algodón. - Promedio total de inflamación. 	<p>Racional Tipo: Cuantitativo</p> <p>Racional Tipo: Cuantitativo</p>

CUADRO N° 05: Operacionalización de Variables Dependientes – Parámetros Hematológicos

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ÍNDICES *	ESCALA
<p align="center">Parámetros Hematológicos</p>	<p>Medida de los elementos sólidos de la sangre, para determinar la presencia de infecciones y otras patologías.</p>	<p>Determinación de los niveles de hematocrito, recuento total de leucocitos y diferencial, para evaluar diversas alteraciones patológicas en los grupos experimentales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Niveles de Hematocrito (%). - Recuento Total de Leucocitos (mm³). - Recuento Diferencial (%) - Fórmulas: <ul style="list-style-type: none"> *El contenido acuoso <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 5px auto;"> $C_A = P_H \cdot P_S$ </div> *El contenido fibrogranuloso <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 5px auto;"> $C_F = P_S - P_{PA}$ </div> *El % del efecto antiinflamatorio $\% EA = \frac{PICN - PISE}{PICN} \times 100$ 	<ul style="list-style-type: none"> - Hematocrito: 37 – 55 % - Recuento Total de Leucocitos: 8300 – 16000 mm³ - Recuento Diferencial: Linfocitos: 75 – 95 Segmentados: 5 – 25 	<p align="center">Escala: Razón</p> <p align="center">Tipo de Variable: Cuantitativa</p>

* Según los índices establecidos por el Instituto de Medicina Tradicional – EsSalud

Four decorative corner brackets, each with a blue outer edge and a green inner edge, arranged in a square pattern around the text.

CAPÍTULO III



1. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

1.1 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

1.1.1 TIPO DE ESTUDIO

1.1.1.1 Experimental: Se realizó un control de variables de acuerdo al protocolo de estudio, con la finalidad de identificar las posibles relaciones entre causa y efecto.

1.1.1.2 Prospectivo: El registro de información se inició a partir de la fecha de estudio.

1.1.1.3 Longitudinal: Se estudió las variables a lo largo del tiempo durante el periodo de investigación.

1.1.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El ensayo pre-clínico se realizó en ratas albinas machos *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann, con peso corporal promedio de **200 – 270 gr.** en condiciones controladas, a los que se les administró el aceite de *Plukenetia volubilis L.* a dosis de 200, 400, 600 y 800 ul/Kg/pc. con un intervalo de 4 días por cada dosis a evaluar, de igual manera se realizará con los grupos experimentales de control (Indometacina a dosis de 2.5 mg./Kg. y Solución Salina al 0.9 %). Esta evaluación tendrá una duración de 31 días, se realizaron pruebas hematológicas como Hematocrito (%), Recuento Total de Leucocitos (mm³), Recuento Diferencial: Linfocitos y Segmentados (%) al inicio, 15^{vo} y 30^{vo} día. (**Anexo 6**).

La distribución de los grupos de estudio será de acuerdo al siguiente esquema de tratamiento:

Cuadro N°06: Distribución de Grupos Experimentales

Grupos de Estudio	Dosis y/o Volúmenes	N° de Animales	Vía de Administración
Control Negativo NaCl 0.9 %	3 mL	10 por Grupo	Oral
Control Positivo Indometacina	2.5 mg/Kg/pc	10 por Grupo	Oral
Aceite de Sacha Inchi	200, 400, 600 y 800ul/Kg/pc.	10 por Grupo	Oral

1.1.2.1 Diseño del Método utilizado: Granuloma inducido por pellets de Algodón.

Se midió los pesos de los pellets de algodón previo a ser colocados en la región interescapular del lomo de la rata albina, posteriormente se pesó los pellets húmedos después de la extracción (peso húmedo) y después de ser sometidos a una temperatura de 110 °C por 5 horas (peso seco), para establecer la diferencia de los pesos útil y determinar el promedio del contenido acuoso y fibrogranuloso presentes en la inflamación que permitirá confirmar la inhibición de la inflamación. Cada grupo de ensayo estuvo conformado por 10 ratas, número necesario para demostrar o rechazar la hipótesis.



2. POBLACIÓN Y MUESTRA

2.1 POBLACIÓN VEGETAL:

Estuvo constituida por el conjunto de plantas de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” de la comunidad de Padre Cocha que está ubicado a orillas del río Nanay que se encuentra en el Distrito de Punchana, en la Provincia de Maynas, Departamento de Loreto (03°42’05.6’’S; 73°16’50.3’’W).(Anexo 8)

2.2 MUESTRA VEGETAL:

Para esta evaluación se utilizó el aceite de *Plukenetia volubilis L.*, el Nutraceite Omega 3[®] que fue elaborado y procesado de la semilla del “Sacha Inchi” en el Instituto de Medicina Tradicional (IMET – EsSalud) - Iquitos.

2.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN VEGETAL:

- Ø Frutos enteros y maduros.
- Ø Semillas enteras y sanas.
- Ø Almendros enteros y sanos.

2.3 POBLACIÓN ANIMAL:

Se utilizaron ratas albinas machos *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann, con peso promedio de 200 – 270 gr. procedentes del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con sede en la ciudad de Lima, con certificado de salud.(Anexo 09)

2.4 MUESTRA ANIMAL:

Se utilizaron 60 ratas albinas machos *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann, teniendo en consideración que en toda la investigación se tiene una pérdida del 5% del tamaño muestral. La selección de los animales fue al azar teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

2.4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN ANIMAL:

- Ø Ratas del sexo machos y con peso corporal de **200 – 270 gr.**
- Ø Ratas albinas adultas jóvenes y sanas.

2.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN ANIMAL:

- Ø Ratas menores de 200 gramos de peso corporal.
- Ø Ratas con incapacidad física y motora.
- Ø Ratas que hayan sido utilizadas en evaluaciones anteriores.
- Ø Ratas que muestren alteraciones funcionales o signos evidentes de enfermedad.
- Ø Ratas hembras.

2.4.3 CONDICIONES AMBIENTALES MÍNIMAS

Todos los animales fueron mantenidos en condiciones iguales de luz y temperatura, con comida balanceada y acceso libre de agua.



3. PROCEDIMIENTOS Y RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS VEGETALES:

En la recolección de las muestras vegetales se consideraron lo siguiente:

- Ø Edad.
- Ø Estado vegetativo.
- Ø Temporada de recolección.
- Ø La identificación taxonómica se realizó mediante una ficha técnica descriptiva de la especie de la planta con la que se trabajará, expedida por el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

3.2 OBTENCIÓN DEL ACEITE:

3.2.1 Recolección de la Materia Prima: Fueron recolectadas considerando la edad, estado vegetativo y la temporada de recolección.

3.2.2 Selección de Materia Prima: Fueron seleccionadas las partes vegetales (semillas) en buen estado de conservación.

3.2.3 Desinfección: Fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% para obtener la semilla sin contaminantes.

3.2.4 Lavado: Las partes vegetales se sometieron a la acción de un chorro de agua para eliminar remanente.

3.2.5 Secado de la Materia Prima: Las muestras seleccionadas fueron sometidas a secado a temperaturas de 42°C durante 48 horas.

3.2.6 Triturado: Las muestras fueron trituradas para separación del almendra.

3.2.7 Prensado: Las muestras fue prensado a temperatura ambiente.

3.2.8 Filtrado: Para eliminar las macromoléculas residuales del prensado.

3.2.9 Envasado al Vacío: Para eliminar el total de aire dentro del envase

sin que sea reemplazado por otro gas.

3.2.10 Sellado: Fueron sellados con tapón, tapa rosca y precinto de seguridad.

3.2.11 Almacenado: Fueron almacenados a temperaturas menores a 20°C y lejos de la luz.

3.3 PRUEBAS HEMATOLÓGICAS:

3.3.1 TOMA DE MUESTRAS:

Las muestras de sangre se tomaron de la vena caudal de la rata para las pruebas hematológicas y se conservaron en condiciones adecuadas para su procesamiento. La toma de muestras se realizaron al inicio, 15^{vo} y 30^{avo} día, las pruebas hematológicas fueron las siguientes:

- Û Lectura del Hematocrito (%).
- Û Recuento Total de Leucocitos (mm³).
- Û Recuento Diferencial: Linfocitos y Segmentados (%).

3.3.1.1 Procedimiento de la Toma de Muestra.

- Se sujetó al animal con la ayuda de los dedos índice y medio, alrededor del cuello del animal y con los otros dedos, sujetamos el tórax y el abdomen, de tal manera que no pueda realizar movimiento alguno.
- La persona encargada de la toma de muestra sujetó la cola y la palmadeó con las palmas de las manos, para ayudar a la dilatación de la vena caudal.
- Producida ésta y con la ayuda de una hoja de bisturí se realizó un corte transversal en la vena caudal.
- La sangre se recolectó en capilares heparinizados de 75 ul., además con una micropipeta automática de 20 ul., para colocarlos en un tubo de ensayo conteniendo Solución Líquida de **TURK**,

para el Recuento Total de Leucocitos y 10 ul. para el frotis sanguíneo.

- La hemorragia se inhibió por compresión energética en la zona del corte, con la ayuda de una torunda de algodón.
- Se procedió la muestra según el análisis hematológico.

3.3.2. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

3.3.2.1. Hematocrito

Las muestras de sangre recolectadas en capilares heparinizados, se centrifugaron por 5 minutos y se realizó la lectura con la tabla de lectura de hematocrito.

3.3.2.2. Recuento Leucocitario Diferencial

Las muestras de sangre se recolectaron con micropipeta de 10 ul., se extendieron en láminas portaobjetos, luego se llevaron a tinción con el colorante Wrigth por 5 minutos, haciendo uso del contador de células manual se realizaron la lectura de 100 células entre linfocitos y segmentados, esta se realizó en el microscopio con objetivo de 40X.

3.3.2.3. Recuento Total Leucocitario

Las muestras de sangre se recolectaron con micropipeta de 20 ul., que se depositaron en un tubo de ensayo, el cual contenía 380 ul de Reactivo de **Turk** luego se tomó 20ul. de la muestra y se llevó a la cámara de Neubauer para realizar la lecturas correspondientes de células leucocitarias, esta se realizó en el microscopio con objetivo de 100X.



4 ETAPA DE CUARENTENA Y SISTEMA DE IDENTIFICACIÓN DE ANIMALES:

4.1 ETAPA DE CUARENTENA:

Las ratas fueron sometidas por 7 días, con la finalidad de que se adapten al entorno del ambiente y estarán bajo observación permanente. Los animales que presentaron alguna alteración funcional fueron separadas de los grupos experimentales.

4.2 SISTEMA DE IDENTIFICACIÓN (MARCAJE / PESAJE):

Las ratas fueron marcados con violeta de genciana, sobre determinadas áreas del cuerpo, posteriormente se procederá al pesado de los animales, por medio de la balanza simple, dicha marca y peso serán anotados en fichas de recolección de datos.

5 MÉTODO DE GRANULOMA INDUCIDO POR PELLETS DE ALGODÓN (MÉTODO CRÓNICO)

5.1 Técnica Operatoria

Para esta evaluación se utilizaron ratas albinas machos, *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann, distribuidas aleatoriamente en grupos de 10 animales por grupo experimental. Después de un ayuno de 12 horas, estos fueron sometidos a anestesia por inyección intraperitoneal de Ketamina 500mg/10 ml a una dosis de 82.5 mg/kg/p.c. Luego se procedió a la decoloración dorsal de la piel y se le practicó una incisión dorsal para implantar 2 pellets de algodón de 25 mg, embebidos en solución de Bencilpenicilina Sódica (1'000.000 UI) en cada animal, equidistantes y separados uno del otro, quedando situados a 4 cm aproximadamente de la herida, posteriormente se suturó y se añadió una solución aséptica sobre la herida para evitar la sepsis.^(37,38)

Después de esperar 30 minutos que pasó el efecto del anestésico, se procedió a la primera administración por vía oral del aceite de *Plukenetia volubilis L.* a dosis de 200, 400, 600 y 800 ul/Kg/pc, Indometacina (2.5 mg./Kg/pc) y Solución Salina al 0.9 %.

Se administraron las sustancias a evaluar durante 30 días y al 31^{avo} día se sacrificaron los animales por dislocación cervical teniendo en consideraciones los aspectos éticos de la experimentación animal.⁽³⁹⁾

Se procedió a la excéresis de los granulomas para ser pesados y secados. Se determinó el contenido acuoso y fibrogranuloso, este último de interés para el promedio de inflamación de los diferentes grupos de ensayo y su posterior interpretación del porcentaje de inhibición de la inflamación respectiva.⁽³⁵⁾

El contenido acuoso se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$C_A = P_H - P_S$$

C_A = Contenido acuoso del granuloma

P_H = Peso Húmedo del Granuloma.

P_S = Peso Seco del Granuloma.

El contenido fibrogranuloso se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$C_F = P_S - P_{PA}$$

C_F = Contenido Fibrogranuloso del granuloma

P_S = Peso Seco del Granuloma.

P_{PA} = Peso del Pellet de Algodón.

El % del efecto antiinflamatorio se obtendrá mediante la siguiente fórmula:

$$\%EA = \frac{PICN - PISE}{PICN} \times 100$$

- Ü **% EA:** Efecto antiinflamatorio.
- Ü **PICN:** Promedio del contenido fibrogranuloso del grupo control negativo (Solución Salina 0.9 %).
- Ü **PISE:** Promedio del contenido fibrogranuloso del grupo de las sustancias en estudio (El aceite a volúmenes de 200, 400, 600 y 800 µl/Kg/pc de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi”).



6 PROTECCIÓN DE LOS DERECHOS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO: ^(40,41)

Las investigaciones biomédicas tienen una responsabilidad ética de salvaguardar la salud y el bienestar de los animales de experimentación, preservándolos de cualquier daño, dolor y sufrimiento innecesario antes, durante y después del período de estudio sin contar que además para el científico, el término de “buen uso”, indica la necesidad de poder contar con animales homogéneos en cuanto a genética, salud, edad, alimentación, peso, etc.; para que los resultados puedan ser confiables.

Para este estudio se seguirán las líneas que marcan el Comité para la Investigación y la Ética de la IASP 86 en lo concerniente a los aspectos éticos de los experimentos que implican dolor o sufrimiento de los animales.

Las consideraciones éticas que se tendrán en cuenta serán:

- Ø Los animales de Laboratorio serán expuestos al mínimo dolor necesario para alcanzar los objetivos de la investigación.
- Ø La duración del experimento será la más corta posible.
- Ø Se utilizarán pequeños grupos de animales, lo necesario para demostrar o rechazar la hipótesis de trabajo.

7 MANEJO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

El manejo apropiado de los animales, es esencial para su bienestar, validez de los datos investigativos, así como la salud y seguridad del grupo de cuidadores. Este programa de ambiente y de alojamiento tiene en cuenta las condiciones que permiten a los animales crecer, madurar, reproducirse en caso que sea deseado y mantener buena salud.⁽²⁹⁾



Las buenas condiciones minimizan variaciones, ya que pudiera modificar las respuestas de los animales a experimento. Es de destacar que un personal bien adiestrado y motivado puede garantizar la alta calidad del cuidado de los animales, aún cuando las condiciones físicas de la estancia y equipamiento no son las óptimas.⁽²⁹⁾

8 PLAN DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

8.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos de las tomas de muestra sanguínea y pesos de las ratas albinas, fueron presentados en tablas y gráficos de barras, expresados en valores de promedios y desviaciones estándar grupales, así como también la de la actividad antiinflamatoria, la lectura del hematocrito, recuento total y recuento leucocitario diferencial. Los datos se procesaron mediante el Análisis de Varianza de una sola vía (ANOVA), que se encuentra contenido en el programa estadístico SPSS v. 18, para realizar las debidas comparaciones entre los grupos experimentales.



9 INSTRUMENTOS Y MATERIALES

9.1 INSTRUMENTOS:

- ü Fichas de Recolección de Datos.

9.2 MATERIAL VEGETAL:

- ü El aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi”.

9.3 MATERIAL BIOLÓGICO:

- ü Ratas albinas *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann, sexo macho.

9.4 MATERIALES DE LABORATORIO:

- ü Algodón hidrófilo.
- ü Pellets pesados (25 mg. – estériles a 120 °C x 1 hora).
- ü Jeringas descartables (1 ml, 10 ml).
- ü Aguja N° 26 x 1”.
- ü Guantes quirúrgicos N° 6 ½ y 7 ½.
- ü Crema depiladora.
- ü Espátula mediana.
- ü Marcador de vidrio.
- ü Papel filtro.
- ü Botellas descartables.
- ü Cernidor.
- ü Cacerolas medianas.
- ü Mascarillas descartables.
- ü Cánula intragástrica
- ü Placas petri.
- ü Vaso de precipitado (25 ml, 50 ml y 100 ml).
- ü Pissetas.

- ü Hilos de sutura (Seda Negra 0/3).
- ü Estuche de disección.
- ü Papel toalla.
- ü Bandejas plásticas con tapa de malla metálica.
- ü Viruta.

9.5 EQUIPOS:

- ü Cocina eléctrica. **Práctika HD-102-D4 700W.**
- ü Balanza Analítica: Marca METTLER TOLEDO AG. 204.
- ü Balanza Digital. Marca OHAUS[®] Compact Portable Balance.
- ü Microscopio Binocular OLYMPUS.
- ü Refrigerador FRIO LUX.
- ü Centrífuga Microhematocrito. Marca: KERT LAB.
- ü Cámara de Neubauaer.
- ü Cámara Fotográfica Digital SONY 10 megapíxeles.

9.6 DROGAS E INSUMOS QUÍMICOS:

- ü Indometacina 25 mg.
- ü Ketamina 500 mg/10 ml.
- ü Cloruro de Sodio 0.9 %.
- ü Violeta de Genciana.
- ü Bencilpenicilina Sódica 1'000. 000UI.
- ü Agua destilada.
- ü Alcohol medicinal.

Four decorative corner brackets, each with a blue and green gradient, arranged in a square around the text.

CAPÍTULO IV



10 RESULTADOS:

10.1. Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 200ul/Kg/pc.

En la tabla N° 01, se muestran los resultados de los pesos de los pellets después de 30 días de evaluación del aceite de *Plukenetia volubilis* L. en ratas albinas a dosis de 200ul/Kg/pc.

Tablas N° 01
Promedio del contenido fibrogranuloso de la evaluación del Aceite de
***Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 200ul/Kg/pc. en ratas albinas.**

Dosis: 200ul/Kg/pc.

MARCA	UBICACIÓN DEL PELLET	PESO PELLETS (mg.)	PESO HÚMEDO (mg.)	PESO SECO (mg.)	CONTENIDO ACUOSO (mg.)	PROMEDIO CONTENIDO ACUOSO	CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg.)	PROMEDIO DEL CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg)
B	Derecha	25	232.00	68.50	163.50		43.50	
	Izquierda	25	238.40	70.80	167.60	165.55	45.80	44.65
F	Derecha	25	202.60	60.20	142.40		35.20	
	Izquierda	25	217.70	65.20	152.50	147.45	40.20	37.70
L	Derecha	25	164.50	64.70	99.80		39.70	
	Izquierda	25	185.30	75.10	110.20	105.00	50.10	44.90
C	Derecha	25	193.20	67.40	125.80		42.40	
	Izquierda	25	208.60	68.60	140.00	132.90	43.60	43.00
PDD	Derecha	25	167.20	70.80	96.40		45.80	
	Izquierda	25	176.40	85.60	90.80	93.60	60.60	53.20
PDI	Derecha	25	155.90	64.90	91.00		39.90	
	Izquierda	25	144.00	60.10	83.90	87.45	35.10	37.50
PTD	Derecha	25	191.10	67.70	123.40		42.70	
	Izquierda	25	163.20	56.70	106.50	114.95	31.70	37.20
PTI	Derecha	25	204.40	65.50	138.90		40.50	
	Izquierda	25	193.00	63.70	129.30	134.10	38.70	39.60
OD	Derecha	25	151.30	56.10	95.20		31.10	
	Izquierda	25	184.90	59.50	125.40	110.30	34.50	32.80
OI	Derecha	25	143.70	61.30	82.40		36.30	
	Izquierda	25	164.10	64.70	99.40	90.90	39.70	38.00
PROM		25	184.08	65.86	118.22	118.22	40.86	40.86
DS		0	27.74	6.72	26.42	26.05	6.72	5.74

FUENTE: LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA-IMET-ESSALUD-IQUITOS

10.2 Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 400ul/Kg/pc.

En la tabla N° 02, se muestran los resultados de los pesos de los pellets después de 30 días de evaluación del aceite de *Plukenetia volubilis* L. en ratas albinas a dosis de 400ul/Kg/pc.

Tablas N° 02

Promedio del contenido fibrogranuloso de la evaluación del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 400ul/Kg/pc. en ratas albinas.

Dosis: 400ul/Kg/pc.

MARCA	UBICACIÓN DEL PELLET	PESO PELLETS (mg.)	PESO HÚMEDO (mg.)	PESO SECO (mg.)	CONTENIDO ACUOSO (mg.)	PROMEDIO CONTENIDO ACUOSO	CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg.)	PROMEDIO DEL CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg)
B	Derecha	25	216.80	60.60	156.20		35.60	
	Izquierda	25	286.70	77.50	209.20	182.70	52.50	44.05
F	Derecha	25	180.60	61.20	119.40		36.20	
	Izquierda	25	214.70	75.30	139.40	129.40	50.30	43.25
L	Derecha	25	241.80	67.60	174.20		42.60	
	Izquierda	25	252.40	70.50	181.90	178.05	45.50	44.05
C	Derecha	25	198.50	64.70	133.80		39.70	
	Izquierda	25	208.70	76.10	132.60	133.20	51.10	45.40
PDD	Derecha	25	220.90	76.50	144.40		51.50	
	Izquierda	25	180.50	65.00	115.50	129.95	40.00	45.75
PDI	Derecha	25	174.80	62.40	112.40		37.40	
	Izquierda	25	147.40	76.30	71.10	91.75	51.30	44.35
PTD	Derecha	25	213.60	80.20	133.40		55.20	
	Izquierda	25	290.80	76.40	214.40	173.90	51.40	53.30
PTI	Derecha	25	291.30	77.20	214.10		52.20	
	Izquierda	25	213.20	63.20	150.00	182.05	38.20	45.20
OD	Derecha	25	259.40	72.90	186.50		47.90	
	Izquierda	25	275.50	79.50	196.00	191.25	54.50	51.20
OI	Derecha	25	190.90	79.40	111.50		54.40	
	Izquierda	25	196.30	59.40	136.90	124.20	34.40	44.40
PROM		25	222.74	71.10	151.65	151.65	46.10	46.10
DS		0E+00	41.74	7.27	39.20	33.82	7.27	3.36

FUENTE: LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA-IMET-ESSALUD-IQUITOS

10.3 Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 600ul/Kg/pc.

En la tabla N° 03, se muestran los resultados de los pesos de los pellets después de 30 días de evaluación del aceite de *Plukenetia volubilis* L. en ratas albinas a dosis de 600ul/Kg/pc.

Tablas N° 03

Promedio del contenido fibrogranuloso de la evaluación del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 600ul/Kg/pc. en ratas albinas.

Dosis: 600ul/Kg/pc.

MARCA	UBICACIÓN DEL PELLET	PESO PELLETS (mg.)	PESO HÚMEDO (mg.)	PESO SECO (mg.)	CONTENIDO ACUOSO (mg.)	PROMEDIO CONTENIDO ACUOSO	CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg.)	PROMEDIO DEL CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg)
B	Derecha	25	287.60	84.60	203.00		59.60	
	Izquierda	25	278.70	68.70	210.00	206.50	43.70	51.65
F	Derecha	25	284.50	78.80	205.70		53.80	
	Izquierda	25	278.20	68.50	209.70	207.70	43.50	48.65
L	Derecha	25	273.90	70.40	203.50		45.40	
	Izquierda	25	287.80	83.50	204.30	203.90	58.50	51.95
C	Derecha	25	278.30	72.50	205.80		47.50	
	Izquierda	25	268.10	66.70	201.40	203.60	41.70	44.60
PDD	Derecha	25	287.20	83.20	204.00		58.20	
	Izquierda	25	288.30	81.10	207.20	205.60	56.10	57.15
PDI	Derecha	25	278.20	78.10	200.10		53.10	
	Izquierda	25	268.90	68.90	200.00	200.05	43.90	48.50
PTD	Derecha	25	274.30	73.10	201.20		48.10	
	Izquierda	25	277.50	74.30	203.20	202.20	49.30	48.70
PTI	Derecha	25	283.40	79.50	203.90		54.50	
	Izquierda	25	274.80	70.40	204.40	204.15	45.40	49.95
OD	Derecha	25	276.90	73.70	203.20		48.70	
	Izquierda	25	287.50	78.20	209.30	206.25	53.20	50.95
OI	Derecha	25	295.80	84.70	211.10		59.70	
	Izquierda	25	287.40	78.50	208.90	210.00	53.50	56.60
PROM		25	280.87	75.87	205.00	205.00	50.87	50.87
DS		0E+00	7.27	5.88	3.37	2.84	5.88	3.79

FUENTE: LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA-IMET-ESSALUD-IQUITOS

10.4 Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 800ul/Kg/pc.

En la tabla N° 04, se muestran los resultados de los pesos de los pellets después de 30 días de evaluación del aceite de *Plukenetia volubilis* L. en ratas albinas a dosis de 800ul/Kg/pc.

Tablas N° 04

Promedio del contenido fibrogranuloso de la evaluación del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi a dosis de 800ul/Kg/pc. en ratas albinas.

Dosis: 800ul/Kg/pc.

MARCA	UBICACIÓN DEL PELLET	PESO PELLETS (mg.)	PESO HÚMEDO (mg.)	PESO SECO (mg.)	CONTENIDO ACUOSO (mg.)	PROMEDIO CONTENIDO ACUOSO	CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg.)	PROMEDIO DEL CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg)
B	Derecha	25	290.40	70.60	219.80		45.60	
	Izquierda	25	307.90	79.40	228.50	224.15	54.40	50.00
F	Derecha	25	317.50	70.60	246.90		45.60	
	Izquierda	25	260.80	70.20	190.60	218.75	45.20	45.40
L	Derecha	25	255.50	75.50	180.00		50.50	
	Izquierda	25	343.70	98.40	245.30	212.65	73.40	61.95
C	Derecha	25	296.00	73.50	222.50		48.50	
	Izquierda	25	290.30	74.50	215.80	219.15	49.50	49.00
PDD	Derecha	25	339.60	87.00	252.60		62.00	
	Izquierda	25	365.90	91.70	274.20	263.40	66.70	64.35
PDI	Derecha	25	289.40	75.50	213.90		50.50	
	Izquierda	25	287.40	76.00	211.40	212.65	51.00	50.75
PTD	Derecha	25	244.50	67.90	176.60		42.90	
	Izquierda	25	317.50	86.80	230.70	203.65	61.80	52.35
PTI	Derecha	25	341.50	88.90	252.60		63.90	
	Izquierda	25	314.70	81.90	232.80	242.70	56.90	60.40
OD	Derecha	25	282.69	94.50	188.19		69.50	
	Izquierda	25	277.85	88.30	189.55	188.87	63.30	66.40
OI	Derecha	25	298.34	85.40	212.94		60.40	
	Izquierda	25	286.57	88.70	197.87	205.41	63.70	62.05
	PROM	25	300.40	81.27	219.14	219.14	56.27	56.27
	DS	0	31.18	9.04	26.88	21.00	9.04	7.50

FUENTE: LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA-IMET-ESSALUD-IQUITOS

10.5 Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/Kg/pc.

En la tabla N° 05, se muestran los resultados de los peso de los pellets después de 30 días de evaluación de los animales en tratamiento con Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/Kg/pc.

Tablas N° 05

Promedio del contenido fibrogranuloso de la evaluación de la Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/Kg/pc. en ratas albinas.

CONTROL POSITIVO-Indometacina: 2.5 mg/Kg/pc.

MARCA	UBICACIÓN DEL PELLET	PESO PELLETS (mg.)	PESO HÚMEDO (mg.)	PESO SECO (mg.)	CONTENIDO ACUOSO (mg.)	PROMEDIO CONTENIDO ACUOSO	CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg.)	PROMEDIO DEL CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg)
B	Derecha	25	281.20	61.60	219.60		36.60	
	Izquierda	25	275.20	63.40	211.80	215.70	38.40	37.50
F	Derecha	25	271.40	60.50	210.90		35.50	
	Izquierda	25	265.50	65.10	200.40	205.65	40.10	37.80
L	Derecha	25	297.00	64.20	232.80		39.20	
	Izquierda	25	289.40	63.00	226.40	229.60	38.00	38.60
C	Derecha	25	286.50	67.00	219.50		42.00	
	Izquierda	25	278.60	71.30	207.30	213.40	46.30	44.15
PDD	Derecha	25	274.20	62.90	211.30		37.90	
	Izquierda	25	270.30	63.00	207.30	209.30	38.00	37.95
PDI	Derecha	25	278.20	63.90	214.30		38.90	
	Izquierda	25	273.40	56.40	217.00	215.65	31.40	35.15
PTD	Derecha	25	277.70	62.10	215.60		37.10	
	Izquierda	25	263.90	61.20	202.70	209.15	36.20	36.65
PTI	Derecha	25	289.70	58.30	231.40		33.30	
	Izquierda	25	286.10	57.80	228.30	229.85	32.80	33.05
OD	Derecha	25	293.70	64.50	229.20		39.50	
	Izquierda	25	283.90	63.80	220.10	224.65	38.80	39.15
OI	Derecha	25	285.50	63.10	222.40		38.10	
	Izquierda	25	277.00	59.80	217.20	219.80	34.80	36.45
PROM		25	279.92	62.65	217.28	217.28	37.65	37.65
DS		0	9.01	3.30	9.31	8.54	3.30	2.89

FUENTE: LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA-IMET-ESSALUD-IQUITOS

10.6 Solución Salina 0.9 %

En la tabla N° 06, se muestran los resultados de los peso de los pellets después de 30 días de evaluación de los animales en tratamiento con Solución Salina 0.9%.

Tablas N° 06

Promedio del contenido fibrogranuloso de la evaluación de la Solución Salina 0.9% en ratas albinas.

CONTROL NEGATIVO-Solución Salina: 0.9%

MARCA	UBICACIÓN DEL PELLETT	PESO PELLETS (mg.)	PESO HÚMEDO (mg.)	PESO SECO (mg.)	CONTENIDO ACUOSO (mg.)	PROMEDIO CONTENIDO ACUOSO	CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg.)	PROMEDIO DEL CONTENIDO FIBROGRANULOSO (mg)
B	Derecha	25	316.30	84.20	232.10		59.20	
	Izquierda	25	377.00	86.70	290.30	261.20	61.70	60.45
F	Derecha	25	385.40	95.60	289.80		70.60	
	Izquierda	25	375.60	87.30	288.30	289.05	62.30	66.45
L	Derecha	25	368.60	89.20	279.40		64.20	
	Izquierda	25	389.50	91.20	298.30	288.85	66.20	65.20
C	Derecha	25	343.20	84.30	258.90		59.30	
	Izquierda	25	310.80	91.20	219.60	239.25	66.20	62.75
PDD	Derecha	25	390.00	87.60	302.40		62.60	
	Izquierda	25	387.90	85.80	302.10	302.25	60.80	61.70
PDI	Derecha	25	391.10	88.50	302.60		63.50	
	Izquierda	25	390.00	87.70	302.30	302.45	62.70	63.10
PTD	Derecha	25	315.30	83.50	231.80		58.50	
	Izquierda	25	299.70	86.90	212.80	222.30	61.90	60.20
PTI	Derecha	25	386.40	84.20	302.20		59.20	
	Izquierda	25	374.20	95.60	278.60	290.40	70.60	64.90
OD	Derecha	25	389.70	98.50	291.20		73.50	
	Izquierda	25	379.80	89.90	289.90	290.55	64.90	69.20
OI	Derecha	25	357.90	92.10	265.80		67.10	
	Izquierda	25	293.40	90.80	202.60	234.20	65.80	66.45
	PROM	25	361.09	89.04	272.05	272.05	64.04	64.04
	DS	0	34.41	4.14	33.62	30.16	4.14	2.91

FUENTE: LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA-IMET-ESSALUD-IQUITOS

10.7 PORCENTAJE DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

En la tabla N° 07, se muestran los promedios y desviación estándar del contenido acuoso y fibrogranuloso y el porcentaje de actividad antiinflamatoria, obtenida por las diferentes dosis, al 30^{avo} día después de la culminación del tratamiento. Encontrándose una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en el grupo del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. a dosis de 800 μ l/Kg/pc., en el contenido fibrogranuloso.

Tabla N° 07

PORCENTAJE DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

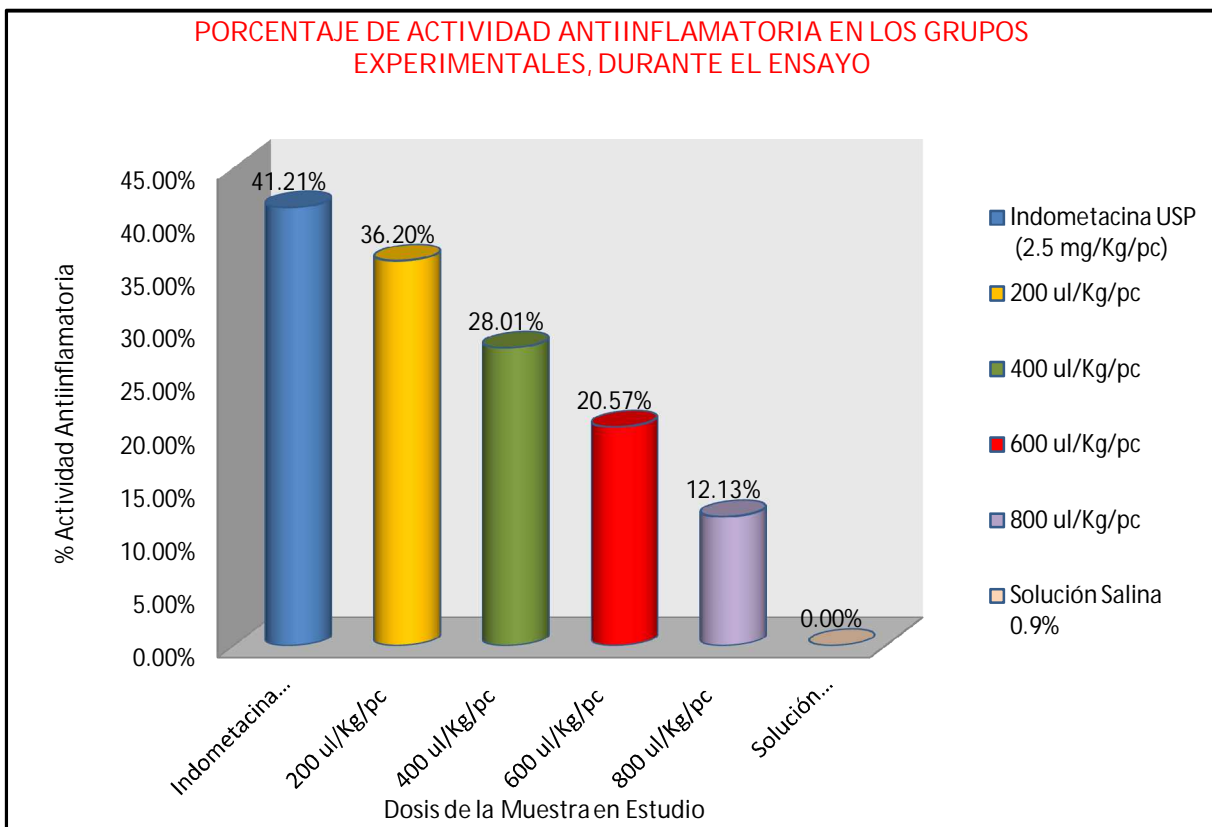
GRUPOS Y/CONTROLES	DOSIS	CONTENIDO ACUOSO X\pmDS	CONTENIDO FIBROGRANULOSO X\pmDS	% ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA
Aceite de Sacha Inchi	200 μ l/Kg/pc	118.22 \pm 26.05	40.86 \pm 5.74	36.20
	400 μ l/Kg/pc	151.65 \pm 33.82	46.10 \pm 3.36	28.01
	600 μ l/Kg/pc	205.00 \pm 2.84	50.87 \pm 3.79	20.57
	800 μ l/Kg/pc	219.14 \pm 21.00	56.27 \pm 7.50*	12.13
Solución Salina 0.9%		277.18 \pm 6.57	64.04 \pm 2.91	
Indometacina USP	2.5 mg/Kg/pc	217.28 \pm 8.54	37.65 \pm 2.89	41.21

X \pm DS: Promedio y Desviación Estándar.

*** $p < 0.05$ vs Control Negativo (Solución Salina 0.9%)**

En el grafico N°01, nos muestra el porcentaje de actividad antiinflamatoria en los diferentes grupos experimentales, en el cual se aprecia el mayor porcentaje en el grupo control positivo (Indometacina USP 2.5 mg/Kg/pc.) con 41.21%; seguido del grupo del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. a dosis de 200 ul/Kg/pc con 36.20%, a dosis de 400 ul/Kg/pc con 28.01%, a dosis de 600 ul/Kg/pc con 20.57% y a dosis de 800 ul/Kg/pc con 12.13%.

Gráfico N° 01



10.8 PORCENTAJE DE LOS NIVELES DE HEMATOCRITO

En la tabla N° 08 y el gráfico N° 02, se muestran los promedios y desviación estándar del porcentaje de hematocrito basal, a los 15 y 30 días del tratamiento, en los diferentes grupos experimentales. Encontrándose una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) a los 30 días en el grupo control negativo con relación al basal.

TABLA N° 08

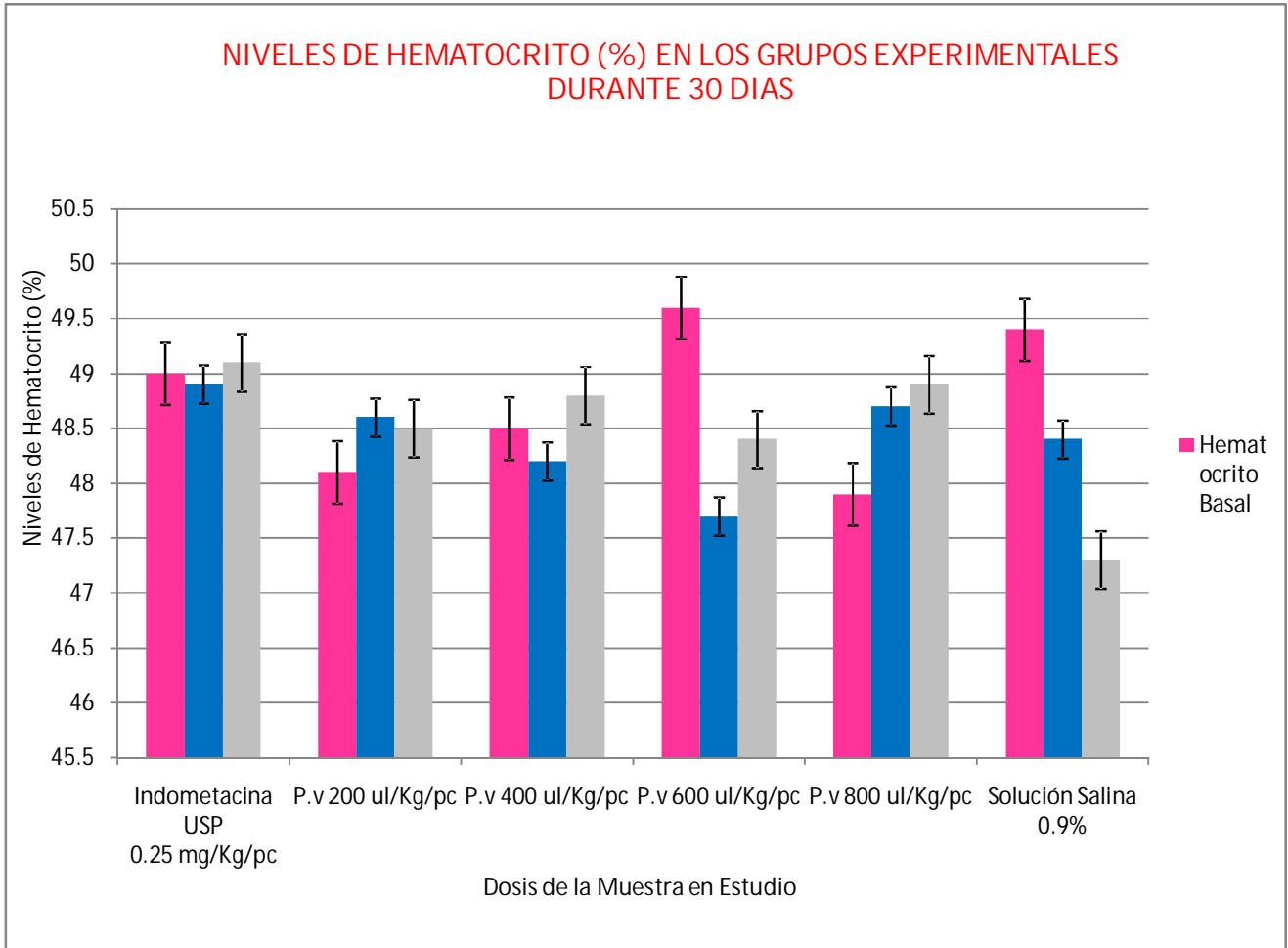
NIVELES DE HEMATOCRITO (%) EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES DURANTE 30 DIAS

Dosis de la Muestra en Estudio	Grupos	Hematocrito Basal	Hematocrito 15 días	Hematocrito 30 días
		X ± DS	X ± DS	X ± DS
	200µl/Kg/pc	48.1± 1.3	48.6 ± 1.0	48.5± 1.1
400µl/Kg/pc	48.5± 1.4	48.2± 1.1	48.8± 1.0	
600µl/Kg/pc	49.6± 2.0	47.7± 2.5	48.4± 2.4	
800µl/Kg/pc	47.9± 2.0	48.7± 2.4	48.9± 1.5	
IndometacinaUSP (2.5mg/Kg)	49.0± 1.4	48.9± 1.8	49.1± 2.1	
Solución Salina 0.9%	49.4±1.9	48.4± 2.0	47.3± 1.6*	

X±DS: Promedio y Desviación Estándar.

* $p < 0.05$ vs Basal.

Gráfico N° 02



10.9 NIVELES DE RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS (mm³)

En la tabla N° 09 y el gráfico N° 03, se muestran el promedio y desviación estándar de los niveles del recuento total de leucocitos (mm³) en el basal, a los 15 y 30 días del tratamiento, en los diferentes grupos experimentales. Encontrándose una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) a los 30 días en el grupo del Aceite de *Plukenetia volubilis L.* a dosis de 200 $\mu\text{l/Kg/pc}$, 400 $\mu\text{l/Kg/pc}$, 600 $\mu\text{l/Kg/pc}$ y 800 $\mu\text{l/Kg/pc}$ como también en el grupo control positivo (Indometacina 2.5 mg/ Kg/pc) con respecto al basal.

TABLA N° 09

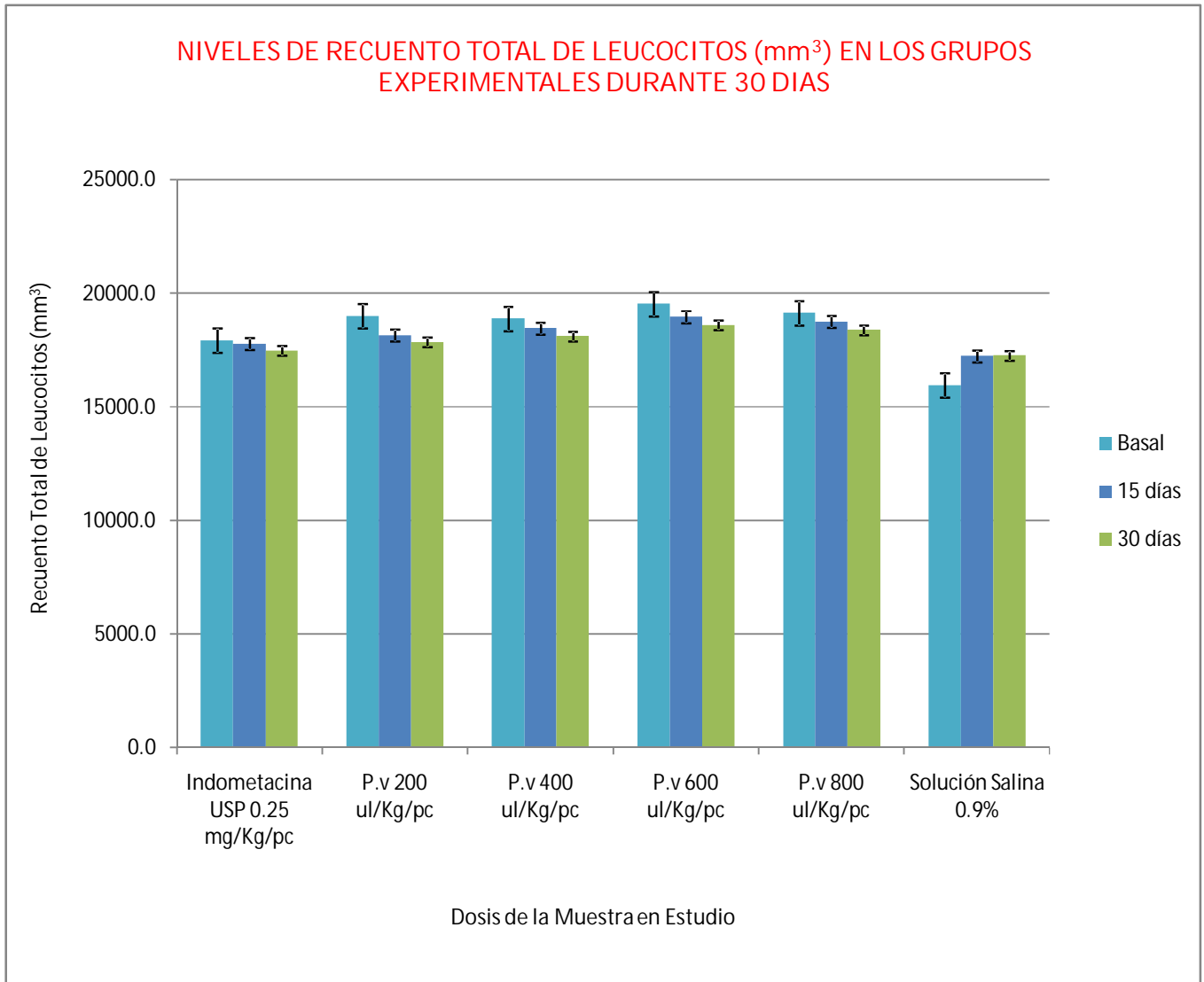
NIVELES DE RECUENTO TOTAL DE LEUCOCITOS (mm³) EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES DURANTE 30 DIAS

Dosis de la Muestra en Estudio	Grupos	Recuento Total de Leucocitos Basal	Recuento Total de Leucocitos 15 días	Recuento Total de Leucocitos 30 días
		X \pm DS	X \pm DS	X \pm DS
	200 $\mu\text{l/Kg/pc}$	19000.0 \pm 535.4	18140.0 \pm 460.0	17850.0 \pm 359.8*
	400 $\mu\text{l/Kg/pc}$	18870.0 \pm 663.4	18450.0 \pm 643.3	18110.0 \pm 497.7*
	600 $\mu\text{l/Kg/pc}$	19530.0 \pm 539.7	18960.0 \pm 537.9	18590.0 \pm 406.7*
	800 $\mu\text{l/Kg/pc}$	19130.0 \pm 783.2	18740.0 \pm 723.0	18380.0 \pm 599.6*
	Indometacina USP (2.5mg/Kg/pc)	17920.0 \pm 301.1	17780.0 \pm 187.4	17470.0 \pm 305.7*
	Solución Salina 0.9%	15950.0 \pm 4656.0	17220.0 \pm 561.3	17250.0 \pm 531.8

X \pm DS: Promedio y Desviación Estándar.

* $p < 0.05$ vs Basal.

Gráfico N° 03



10.10 PORCENTAJE DE LOS NIVELES DE RECuento DIFERENCIAL - LINFOCITOS

En la tabla N° 10 y el gráfico N° 04, se muestran el promedio y desviación estándar del porcentaje de los niveles del recuento diferencial en linfocitos en el basal, a los 15 y 30 días del tratamiento, en los diferentes grupos experimentales. Encontrándose una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) a los 15 días en el grupo del Aceite de *Plukenetia volubilis L.* a dosis de 600 $\mu\text{l/Kg/pc}$, como también a los 30 días y en el grupo control negativo con respecto al basal.

TABLA N° 10

NIVELES DE RECuento DIFERENCIAL – LINFOCITOS (%) EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES DURANTE 30 DIAS

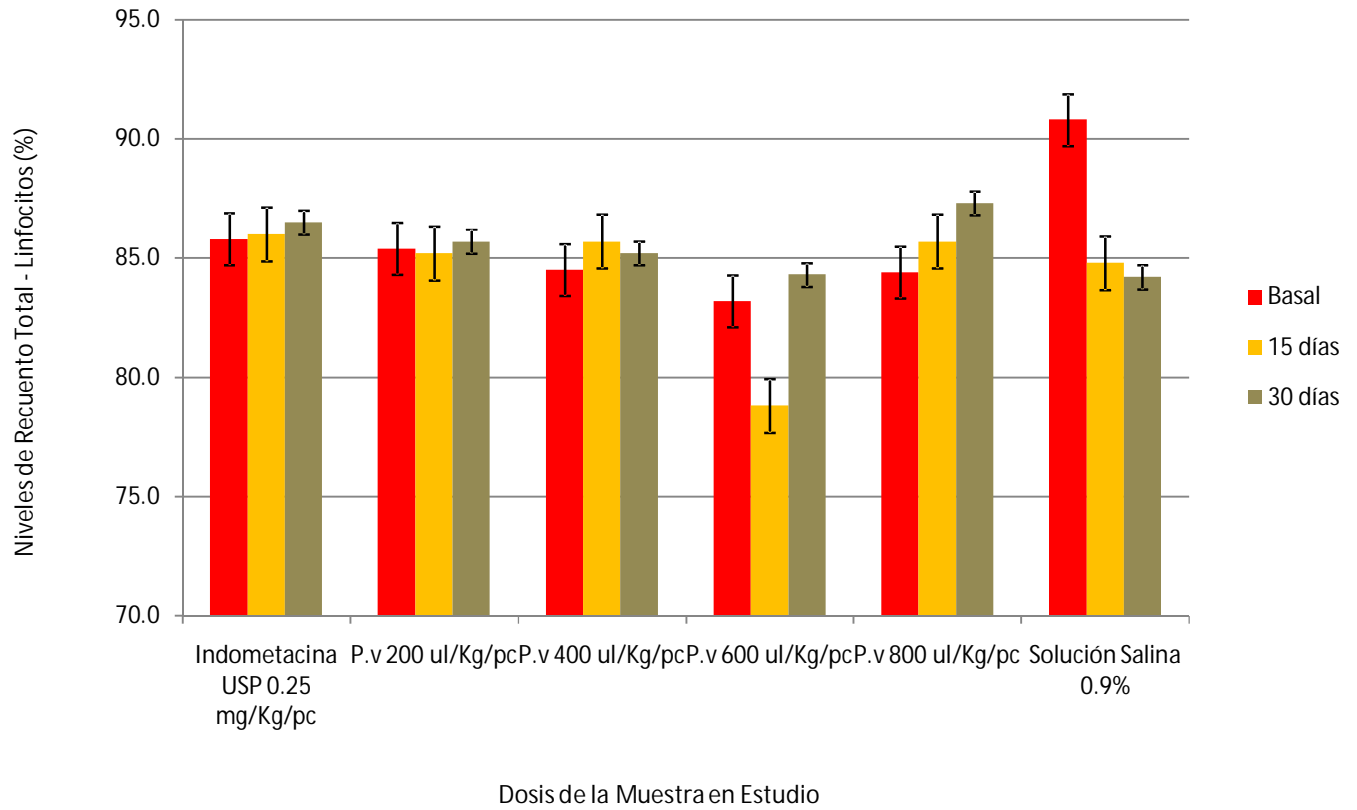
	Grupos	Recuento Diferencial Linfocitos Basal	Recuento Diferencial Linfocitos 15 días	Recuento Diferencial Linfocitos 30 días
		X \pm DS	X \pm DS	X \pm DS
		Dosis de la Muestra en Estudio	200 $\mu\text{l/Kg/pc}$	85.4 \pm 2.1
	400 $\mu\text{l/Kg/pc}$	84.5 \pm 1.4	85.7 \pm 3.4	85.2 \pm 2.9
	600 $\mu\text{l/Kg/pc}$	83.2 \pm 3.0	78.8 \pm 2.4*	84.3 \pm 2.6
	800 $\mu\text{l/Kg/pc}$	84.4 \pm 3.4	85.7 \pm 3.3	87.3 \pm 1.3
	Indometacina USP (2.5mg/Kg/pc)	85.8 \pm 1.8	86.0 \pm 2.5	86.5 \pm 4.6
	Solución Salina 0.9%	90.8 \pm 3.3	84.8 \pm 2.3	84.2 \pm 2.3*

X \pm DS: Promedio y Desviación Estándar.

* $p < 0.05$ vs Basal.

Gráfico N° 04

NIVELES DE RECuento TOTAL - LINFOCITOS (%) EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES DURANTE 30 DIAS



10.11 PORCENTAJE DE LOS NIVELES DE RECUENTO DIFERENCIAL - SEGMENTADOS

En la tabla N° 11 y el gráfico N° 05, se muestran el promedio y desviación estándar del porcentaje de los niveles del recuento diferencial en linfocitos en el basal, a los 15 y 30 días del tratamiento, en los diferentes grupos experimentales. Encontrándose una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) a los 15 días en el grupo del Aceite de *Plukenetia volubilis L.* a dosis de 600 ul/Kg/pc, como también a los 30 días en el grupo del Aceite de *Plukenetia volubilis L.* a dosis de 800 ul/Kg/pc y en el grupo de control negativo con respecto al basal.

TABLA N° 11

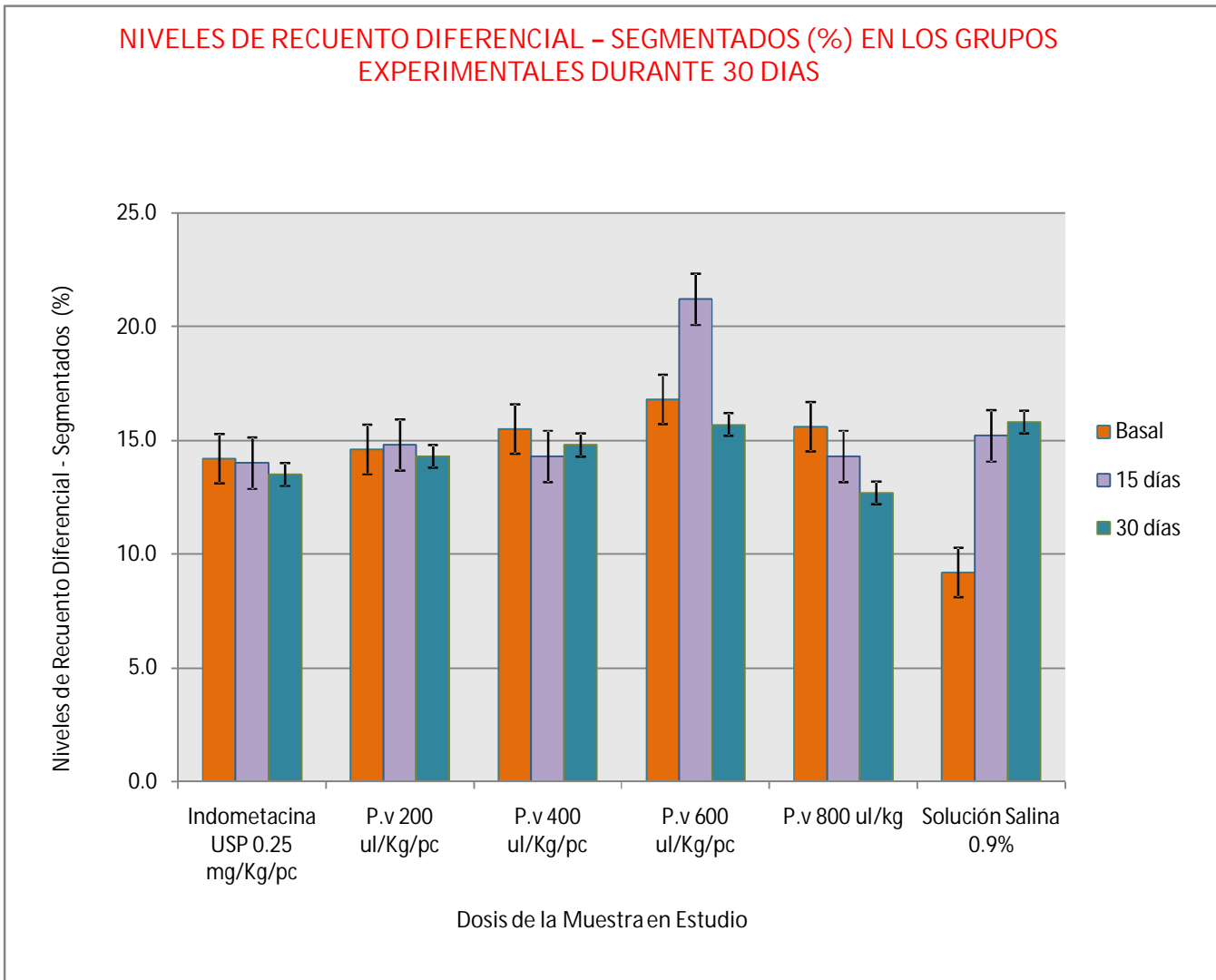
NIVELES DE RECUENTO DIFERENCIAL – SEGMENTADOS (%) EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES DURANTE 30 DIAS

	Grupos	Recuento Diferencial Segmentados Basal	Recuento Diferencial Segmentados 15 días	Recuento Diferencial Segmentados 30 días
		X ± DS	X ± DS	X ± DS
		Dosis de la Muestra en Estudio	200ul/Kg/pc	14.6 ± 2.1
	400ul/Kg/pc	15.5 ± 1.4	14.3 ± 3.4	14.8 ± 2.9
	600ul/Kg/pc	16.8 ± 3.0	21.2 ± 2.4*	15.7 ± 2.6
	800ul/Kg/pc	15.6 ± 3.4	14.3 ± 3.3	12.7 ± 1.3*
	Indometacina USP (2.5mg/Kg/pc)	14.2 ± 1.8	14.0 ± 2.5	13.5 ± 4.6
	Solución Salina 0.9%	9.2 ± 3.3	15.2 ± 2.3	15.8 ± 2.3*

X±DS: Promedio y Desviación Estándar.

* $p < 0.05$ vs Basal.

Gráfico N° 05





11 DISCUSIÓN:

Los resultados del presente estudio proporcionan una valiosa información, sobre el posible efecto antiinflamatorio del aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” mediante el método de granuloma, tras la administración oral del aceite durante 30 días, en ratas albinas machos cepa Holtzmann.

En los resultados obtenidos respecto a la evaluación del porcentaje de actividad antiinflamatoria, tratado con aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” a dosis de 200 ul/Kg/pc, 400 ul/Kg/pc, 600 ul/Kg/pc y 800 ul/Kg/pc, teniendo como control positivo a la Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/Kg/pc, se observa que el mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria se presentó a dosis de 200 ul/Kg/pc con 36.20%, seguido de 400 ul/Kg/pc(28.01%), 600 ul/Kg/pc (20.57%) y 800 ul/Kg/pc (12.13%); a diferencia de la Indometacina USP a dosis 2.5 mg/Kg/pc (41.21%) que presentó mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria.

Los aceites esenciales y los extractos vegetales son mezclas complejas de metabolitos secundarios, aislados de las plantas por diversos métodos como la destilación por arrastre de vapor, por expresión de los frutos o por medio de soxtlet. Los principales componentes químicos de estas mezclas son: mono y sesquiterpenos incluyendo carbohidratos, alcoholes, éter, aldehídos y cetonas, los cuales son responsables de las fragancias y de las propiedades biológicas de las plantas aromáticas y medicinales. Los aceites esenciales y extractos vegetales cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos mostrando diversas propiedades como antiinflamatorios, antioxidantes, y anticancerígenos. Otras actividades biológicas se reportan como biocidas en contra de una amplia gama de microorganismos como bacterias, hongos, virus, protozoarios insectos y plantas.

Las compañías farmacéuticas están buscando drogas alternativas de otras fuentes incluyendo las plantas y los animales. Las plantas medicinales son consideradas como una fuente potencial de nuevas drogas quimioterapéuticas debido a su contenido de fitoquímicos y a su poco o nulo efecto tóxico.

En el caso del aceite de *Plukenetia volubilis* L. “Sacha Inchi” se evidenció que a menor dosis tiene un mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria, esto puede deberse a la causa de **variabilidad cinética dependiente de la dosis**, en este caso podría deberse a una sobresaturación de los receptores en la fijación a las proteínas plasmáticas y tisulares; también tenemos que tener en cuenta la **liposolubilidad** de la sustancia para atravesar varias membranas celulares semipermeables antes de llegar a la circulación general. Las membranas celulares se componen fundamentalmente de una matriz lipídica bimolecular que contiene colesterol y fosfolípidos. Los lípidos proporcionan estabilidad a la membrana y determinan sus características de permeabilidad.

El posible efecto antiinflamatorio, puede asociarse al alto contenido de esteroides y flavonoides que ayudan a disminuir la inflamación, ya que éstos son capaces de captar los radicales libres originados durante este proceso, como el radical superóxido y el radical hidroxilo, los cuales, se generan por procesos peroxidativos de los fosfolípidos ocasionando una alteración en las membranas. Estos resultados concuerdan con los reportados por Castillo S, Ericson F, Castillo V, Segundo F, Reyes A, Cecilia E (2010), realizaron un estudio para determinar los metabolitos secundarios presentes en *Plukenetia volubilis* L. y al mismo tiempo analizar su efecto antioxidante en la lipoperoxidación inducida por Fe^{3+} /ascorbato en homogenizado de hígado de *Rattus rattus* var. albinus. Este estudio fue realizado con la finalidad de determinar cualitativamente los metabolitos secundarios por medio de las reacciones de coloración y precipitación. El análisis fitoquímico del extracto etanólico reveló la presencia de taninos, flavonoides, esteroides y alcaloides. El presente estudio demostró el efecto antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Plukenetia volubilis* L. mediante la reacción del ácido tiobarbitúrico,

midiendo el malonaldehído (MDA) formado, con el propósito de determinar la peroxidación lipídica.⁽¹⁰⁾

La peroxidación lipídica fue indicada con el ataque de los radicales libres a los ácidos grasos insaturados, y se propagó mediante un ciclo de reacción en cadena. Como los ácidos grasos insaturados son los componentes más importantes de las membranas biológicas y aportan propiedades deseables a la fluidez de la estructura de la membrana celular, la peroxidación de los ácidos grasos insaturados en las membranas biológicas conllevó a la aparición de trastornos en la estructura y el funcionamiento de la membrana.

Los resultados obtenidos con Indometacina son congruentes con los que sustentan, que los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son muy eficaces en éste modelo. El efecto farmacológico de la Indometacina radica básicamente en su efectividad clínica de inhibición de la enzima ciclo-oxigenasa. Como consecuencia inhibe la formación de prostaglandinas (particularmente PGE₂ y PGI₂) a partir del ácido araquidónico membranario de distintos tipos celulares.⁽⁴²⁾

La Indometacina como otros AINEs, inhibe la infiltración de granulocitos en el cuerpo extraño, previniendo la generación de fibras de colágeno y la presencia mucopolisacáridos. Ha sido descrito también que estas drogas inhiben el incremento de la permeabilidad vascular inducida por la hialuronidasa, lo cual puede explicar la eficacia mostrada en este modelo, en el cual el incremento de la permeabilidad vascular es uno de los factores implicados en la formación del granuloma.⁽⁴²⁾

Según las condiciones experimentales de trabajo en los parámetros hematológicos, se observó que en el grupo control negativo (Solución Salina 0.9%), existe un incremento en el porcentaje de hematocrito y disminución de linfocitos, característica de un proceso inflamatorio crónico. Además, se observó mayor porcentaje del contenido fibrogranuloso (Tabla N° 07). Los parámetros hematológicos fueron al grupo tratado con aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha

Inchi” a dosis de 800 ul/Kg/pc, con la diferencia, de que en este grupo el contenido fibrogranuloso fue menor.

En el caso del grupo tratado con Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/Kg/pc, se observó un aumento de linfocitos dentro de los vasos sanguíneos, lo que demuestra una disminución del proceso inflamatorio; la disminución de leucocitos, también es un factor que determina la disminución del proceso inflamatorio, debido a que éstos llevan a cabo la ingestión de agentes agresores y la destrucción de bacterias, produciendo diversos productos leucocitarios, que pueden dañar el tejido y prolongar el proceso inflamatorio; el porcentaje del contenido fibrogranuloso en fase de degranulación fue menor al grupo testigo, esto indica la disminución de la inflamación, debido a que han sido identificados diversos mediadores angiogénicos derivados de las células cebadas, (contenido fibrogranuloso) como por ejemplo la histamina que incrementa la permeabilidad de la microvasculatura, facilitando la migración de células endoteliales para la formación de nuevos vasos sanguíneos o la liberación de otros mediadores como proteasas, citosinas y leucotrienos, presentes en la regulación del proceso inflamatorio. En relación a la presencia de células plasmáticas y fibroblastos, no se observaron diferencias entre los grupos.^(43,44)

El grupo tratado con aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” a dosis de 200 ul/Kg/pc, se observa disminución de linfocitos dentro de vasos sanguíneos, sin embargo, en este caso también existió una elevada cantidad de los mismos, dispersos en el tejido conjuntivo. En relación al contenido fibrogranuloso, la presencia fue similar al grupo testigo. A estas dosis, se observa disminución en el número de células cebadas degranulando (contenido fibrogranuloso), de manera similar a lo observado con Indometacina.



12 CONCLUSIONES:

- @ El método de granuloma con que se induce inflamación en ratas albinas, demostró ser efectivo en el proceso inflamatorio según las condiciones experimentales de trabajo.

- @ El Aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” a dosis de 200 ul/Kg/pc en ratas albinas cepa Holtzmann, presentó un mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria con respecto a las demás dosis ensayadas mediante el Método de Granuloma inducido por pellet de Algodón.

- @ El aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” presenta mayor efecto antiinflamatorio a menor dosis (200 ul/Kg/pc), en ratas albinas cepa Holtzmann, mediante el Método de Granuloma inducido por pellet de Algodón.



13 RECOMENDACIONES:

- @ Realizar estudios fitoquímicos de las diversas fracciones del aceite de *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi” con el propósito de determinar los principios activos responsables del efecto antiinflamatorio.

- @ Realizar estudios histopatológicos del tejido aledaño de la zona interescapular del lomo de la rata albina, donde fueron implantados los pellets de algodón mediante el método de la formación de granuloma subcutáneo; en todos los grupos sometidos a este estudio, que nos permita tener un mejor sustento y comprensión de este modelo de inflamación crónica.

- @ Incentivar y realizar trabajos de investigación mediante la aplicación de este y otros métodos, que brinden una mayor y valiosa información del efecto antiinflamatorio que pueda tener esta especie de planta investigada a las dosis de aceites ensayadas y a otras dosis.

- @ Realizar estudios de las diferentes partes de esta especie de planta investigada (raíces, tallos, hojas y flores), con la aplicación del mismo método, lo cual nos permita obtener amplia información de la acción antiinflamatoria.

- @ Realizar estudios de toxicidad aguda y sub-crónica para determinar la inocuidad y posterior seguridad de uso del *Plukenetia volubilis L.* “Sacha Inchi”.



14 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Organización Mundial de Salud. Medicina tradicional. [Sitio en web]. 2005 [Acceso 14 de abril 2010] Disponible en: <http://www.who.int/features/qa/20/es/index.html>
2. García Martínez Y; Martínez Cruz V; Torres Díaz A. 2007. Inflamación aguda y patologías. Policlínica universitaria “Belkis Sotomayor Álvarez” Ciego de Ávila. [Artículo en internet]. [Acceso el 20 de Diciembre 2010]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol14_supl1_08/revisiones/r7v14_supl108.htm
3. Choi, E., Hwang, J., 2003. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeta*, *Physalis angulate* and *Rosa hybrid*. Journal of Ethnopharmacology.89:171-175.
4. Yesilada, E., Ustun, O., Sezik, E., Takaishi, Y., Ono, Y., Honda, G., 1997. Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokine: interleukin-1a, interleukin-1b and tumour necrosis factor a. Journal of Ethnopharmacology. 58:59-73.
5. Soto, R. Relación entre ácidos grasos insaturados y saturados. [Sitio en web]. Febrero 1999. Revista. Soyanoicias – Marzo de 1999 NRC. . [Acceso 14 de Abril 2010] Disponible en: <http://www.incainchi.es/sp/inca/inca/.htm>
6. Agroindustria Amazónicas USA, Inc. [Sitio en web]. 2007 [Acceso 20 de mayo 2010] Disponible en: http://www.incainchiusa.com/inca123_007.htm

7. Muñoz Jáuregui; Ramos Escudero; Alvarado O; Castañeda C; Barnett M; Yáñez F; Cajaleón Asencios. Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semilla de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). [Revista de internet]. 2010. [acceso 25 de Abril del 2011]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2010000300005&script=sci_arttext
8. Aranda V, J.; Informe de análisis del Aceite de *Plukenetia volubilis* L. Laboratorio SGS. 2010.
9. Castillo S, Ericson F; Castillo V, Segundo F; Reyes A, Cecilia E. Estudio fitoquímico de *Plukenetia volubilis* L. y su efecto antioxidante en la lipoperoxidación inducida por Fe³⁺/ascorbato en hígado de *Rattus Rattus* var. albinus. [Revista en Internet]. 2010 Marzo. Trujillo. UCV Scientia. [acceso 26 de Abril de 2011]. 2(1). Disponible en: <http://revistas.concytec.gob.pe/pdf/scientia/v2n1/a02v2n1.pdf>
10. Aranda A, Adrian L, Paredes A, Daniel O. Estabilidad oxidativa y capacidad antioxidante del aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.), extraído de semillas tostadas a diferentes condiciones. [Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial]. Universidad San Ignacio de Loyola – USIL, Facultad de Ingeniería Agroindustrial y Agronegocios. 2008.
11. Pascual, G.; Mejía, M. Extracción y caracterización del aceite de Sacha Inchi. Anales Científicos UNALM. Lima 2000. Enero-Marzo (42):144-158.
12. Rodríguez C.; Tuesta V. Efecto hipoglicémico del aceite de *Plukenetia volubilis* L. y de los extractos acuosos de *Abuta grandifolia*, *Abuta rufescens*, *Notholae nanívea* en ratas albinas aloxonizadas. Departamento de Farmacología y Toxicología – Instituto de Medicina Tradicional – EsSalud. Iquitos – Perú. 2010.

13. Linares E.; Aranda J.; Nina E.; Ríos F.; Villacrés J. Efecto del Nutraceute Omega 3 del IMET[®] (*Plukenetia volubilis* L.) sobre el perfil lipídico en *Rattus norvegicus* cepa Hotlzmann, con hiperlipidemia experimental. Departamento de Farmacología y Toxicología – Instituto de Medicina Tradicional- EsSalud. Iquitos – Perú. 2009.
14. Ríos F.; Aranda J.; Nina E.; Villacrés J.; Ramos K.; Bicerra J. Efecto Gastro protectora del Nutraceute Omega 3 de *Plukenetia volubilis* L. de IMET[®] en ratas albinas. Departamento de Farmacología y Toxicología – Instituto de Medicina Tradicional – EsSalud. Iquitos – Perú. 2008.
15. Huamán J.; Chávez K; Castañeda E.; et al. Efecto de la *Plukenetia volubilis* L. en la trigliceridemia posprandial. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; [Anales de la Facultad de Medicina]. 2008. 69 (4): 263-6.
16. Castro. J; Aranda, J.; Ríos, F.; Infa.; G. Evaluación genotóxica del aceite de *Plukenetia volubilis* L. (Nutraceute Omega 3 del IMET) mediante el ensayo de anomalías en la cabeza de los espermatozoides y el ensayo cometa. Departamento de Farmacología y Toxicología- Instituto de Medicina Tradicional-EsSalud. Iquitos-Perú; 2009.
17. Ríos F.; Pinedo J.; Aranda J.; Nina E.; Villacrés J. Toxicidad a dosis repetida del nutraceute omega 3 de IMET[®] (*Plukenetia volubilis* L.) “Sacha Inchi” en animales de experimentación. Departamento de Farmacología y Toxicología – Instituto de Medicina Tradicional – EsSalud. Iquitos – Perú. 2009.
18. Ríos F.; Pinedo J.; Aranda J.; Nina E.; Villacrés J. Toxicidad a dosis aguda oral del Nutraceute Omega 3 del IMET[®] (*Plukenetia volubilis* L.) “Sacha Inchi” en animales de experimentación. Departamento de Farmacología y Toxicología – Instituto de Medicina Tradicional – EsSalud. Iquitos – Perú. 2008.

19. Gorriti, A.; Córdova, A.; Arroyo, J.; et al. Estudio farmacognóstico toxicidad aguda oral y actividad hipolipemiente de las semillas de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi). IX Jornadas de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas “Dra. Bertha Pareja Pareja”. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 2006.
20. Pascual, G.; Mejía, M. Extracción y caracterización del aceite de Sacha Inchi. Anales Científicos UNALM.Lima 2000. Enero-Marzo (42):144-158.
21. Sacha Inchi. [Sitio en web]. 2009. [Acceso 25 de mayo 2010] Disponible en: <http://www.proyectosachainchi.galeon.com/> (20.03.2009)
22. AZKUE M. La fenología como herramienta en la agroclimatología – Fenología. [Consulta el 1 de Diciembre del 2009] Disponible en: [http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/monografías/fenología/fenología.htm\(2002\)](http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/monografías/fenología/fenología.htm(2002)).
23. Benavides, J.; Morales, J. Caracterización del Aceite y Proteína del Cultivo de Sacha Inchi o Maní del Monte (*Plukenetia volubilis L.*) como alternativa para la alimentación humana y animal. 1994.
24. Lands, W. The fate of polyunsaturated fatty acids. En: Simopolous, A.P., Kifer, R.R., Martin, R.E. Health effects of polyunsaturated fatty acids in sea foods. The United States of the American. Academy Press. Inc. 1986. Pág. 33-48.
25. Grundy. Cap 9. En: Simopolous, A.P., Kifer, R.R., Martin, R.E. Health effects of polyunsaturated fatty acids in sea foods. The United States of the American. Academy Press. Inc. 1986. Pág. 33-48.
26. Weber, P.C., Fisher, S., von Schacky, C., Lorenz, R. y Strasser, T. Dietary Omega –3 polyunsaturated fatty Acid and Eicosanoid formation in man. En: Simopolous, A.P., Kifer, R.R., Martin, R.E. Health effects of polyunsaturated

fatty acids in sea foods. The United States of the American. Academy Press. Inc. 1986. Pág. 49-60.

27. Barbosa, D.S., Cecchini, R., El Kadri, M.Z., Rodríguez, M.A., Burini, R.C., Dichi, 2003. Decreased oxidative stress in patients with ulcerative colitis supplemented with fish oil omega-3 fatty acids. *Nutrition* 19, 837–842.
28. Brack E. A. Amazonía peruana, comunidades indígenas, conocimientos y tierras tituladas. CEF/PNUD/UNOPS. Lima Perú. 1997. [Sitio en internet]. [acceso 10 de Abril del 2008]. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/agL/agll/rla128/iap/IIAP3/iap3-01.htm#TopOfPage>.
29. Seguro Social de Salud – EsSalud. Protocolos de Estudio de Farmacología y Toxicología. 1999. [Protocolos] [acceso 25 de abril del 2010].
30. Wikipedia libre. Inflamación. [Sede Web]. Wikipedia.com. 2011. [actualizada el 10 de Abril de 2011; acceso 03 de Mayo de 2011]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Inflamaci%C3%B3n>
31. Pardo FJ, et al. Anatomía patológica. 2da Ed. Mosby. 1997. Pag 177-187.
32. William R. M. Inmunología. Tercera Edición. Editorial Colina – Fondo Educativo Interamericanos S.A. Inflamación: Págs. 30 – 35. 1996.
33. Sociedad Cubana de Farmacología. Memorias (Programa y Resúmenes). Taller nacional sobre inflamación. Escuela Latinoamericana de Medicina 28 al 30 de noviembre. 2001. Pag: 16, 18, 21, 22, 23, 30, 32, 33 y 69. [Sitio en internet]. 2001. Disponible en: www.scf.sld.cu/pdf/taller-inflamacion/4taller04/4taller-programa-resumenes.pdf -

34. Cytel/CNPq. Métodos de la evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Págs. 60 – 71. 2001.
35. Vinay K, M; Abul K. A; Nelson F. Patología estructural y funcional. 7ª edición. Impreso en Madrid. Editorial SAUNDERS. Págs.47 – 86. 2005.
36. Bertram G. Katzung, Farmacología básica y clínica. Fármacos Antiinflamatorios no esteroideos. Ibuprofeno. Indometacina. 599. 2007.
37. CYTED-RIVAPLAMED. Métodos farmacológicos para la validación de plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo;2001.p.65-69
38. CYTED. Manual de técnicas de investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 1995.p.99-101.
39. Betancourt, J. Cuestiones éticas en la experimentación animal. IMET – EsSalud. Iquitos. Folleto.
40. Schumenam de Aluja Alnin. Derechos de los animales. Gaceta Médica de Méjico N° 131 (1) pág. 49-63. Jan-Feb.1995.
41. Ortega A., Micó J.I Symposium de Dolor en Reumatología: Modelos animales de dolor. Reumatol. Clin. [Internet] 2006 [acceso 06 de setiembre del 2009] 2 Supl 1:S2-4 Disponible en:<http://www.doyma.es>
42. Menéndez R., Carbajal D., Mas R., Perez Y., Molina V., Arruzabala M. &Gonzalez M. [Acceso el 10 de Agosto del 2011]

43. Kumar V., Abbas A. K., Fausto N. 2005. Patología estructural y funcional. 7^{ma} Edición Elsevier, España, pp. 48 – 81.

44. González E. C., Medina T. J., Benítez G. J. P. 2005. Transducción de señales en las células cebadas: mecanismos que controlan la desgranulación y la síntesis diferencial de citosinas. Mensaje Bioquímico, 34: 225 – 240.

45. Bertram G. Katzung. Farmacología básica y clínica. Décima Edición. Editorial el Manual Moderno.2007.

46. Florez J. Farmacología Humana. Tercera Edición. Editorial Masson S.A.1997.



ANEXOS

ANEXO 01

**CUADRO N° 07: FICHAS DE RECOLECCION DE DATOS PARA LA
EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA**

Modelo de Estudio:.....
 Modelo Biológico:.....Sexo:.....
 Sustancia:..... Hora de
 Administración:.....
 Dosis:.....
 Fecha de Inicio:..... Fecha de Término:

Fichas de Observación

Marca	Peso (gr)	Vi	Observaciones
B			
F			
L			
C			
PDD			

Vi: Volumen de Inóculo.

Marca	Peso (gr)	Vi	Observaciones
PDI			
PTD			
PTI			
OD			
OI			

Vi: Volumen de Inóculo

ANEXO 02

**CUADRO N° 08: FICHAS DE RECOLECCION DE DATOS PARA LA
EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA – Pellets de Algodón**

Modelo de Estudio:.....
 Modelo Biológico:.....Sexo:.....
 Sustancia:..... Hora de
 Administración:.....
 Dosis:.....
 Fecha de Inicio:..... Fecha de Término:

**Fichas de Recolección de los Resultados
del Efecto Inflamatorio**

Marca de Identificación		Peso de Pellets (mg)	Peso Húmedo (mg)	Peso Seco (mg)	Contenido Acuoso (mg)	Contenido Fibrogranuloso (mg)
B	Izquierda					
	Derecha					
F	Izquierda					
	Derecha					
L	Izquierda					
	Derecha					
C	Izquierda					
	Derecha					
PDD	Izquierda					
	Derecha					

Marca de Identificación		Peso de Pellets (mg)	Peso Húmedo (mg)	Peso Seco (mg)	Contenido Acuoso (mg)	Contenido Fibrogranuloso (mg)
PDI	Izquierda					
	Derecha					
PTD	Izquierda					
	Derecha					
PTI	Izquierda					
	Derecha					
OD	Izquierda					
	Derecha					
OI	Izquierda					
	Derecha					

ANEXO 03

**CUADRO N° 09: FICHAS DE RECOLECCION DE DATOS PARA LA
EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA – Recuento Diferencial**

Modelo de Estudio:.....
 Modelo Biológico:.....Sexo:.....
 Sustancia:..... Hora de
 Administración:.....
 Dosis:.....
 Fecha de Inicio:..... Fecha de Término:

ID	Dosis	Leucocitos	
		Linfocitos	Segmentados
B			
F			
L			
C			
PDD			
PDI			
PTD			
PTI			
OD			
OI			
PROMEDIO			

B = Blanco
F = Frente
L = Lomo
C = Cola
PDD = Pata Delantera Derecha
PDI = Pata Delantera Izquierda
PTD = Pata Trasera Derecha
PTI = Pata Trasera Derecha
OD = Oreja Derecha
OI = Oreja Izquierda

ANEXO 04: Tabla N° 12.- Tabla de Dosificación (Factor de volumen (ml x 10⁻²)/gmc.)

C/F [%]	1.4	1.6	1.8	2.0	2.2	2.4	2.6	2.8	3.0	3.2	3.4	3.6	3.8	4.0	
0.05	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Altamente Tóxico
0.1	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	
0.2	28	32	36	40	44	48	52	56	60	64	68	72	76	80	
0.3	42	48	54	60	66	72	78	84	90	96	102	108	114	120	Moderadamente Tóxico
0.4	56	64	72	80	88	96	104	112	120	128	136	144	152	160	
0.5	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
1.0	140	160	180	200	220	240	260	280	300	320	340	360	380	400	Ligeramente Tóxico
1.5	210	240	270	300	330	360	390	420	450	480	510	540	570	600	
2.0	280	320	360	400	440	480	520	560	600	640	680	720	760	800	
2.5	350	400	450	500	550	600	650	700	750	800	850	900	950	1000	
3.0	420	480	540	600	660	720	780	840	900	960	1020	1080	1140	1200	
3.5	490	560	630	700	770	840	910	980	1050	1120	1190	1260	1330	1400	
4.0	560	640	720	800	880	960	1040	1120	1200	1280	1360	1440	1520	1600	Prácticamente No Tóxico
5.0	700	800	900	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000	
10.0	1400	1600	1800	2000	2200	2400	2600	2800	3000	3200	3400	3600	3800	4000	
15.0	2100	2400	2700	3000	3300	3600	3900	4200	4500	4800	5100	5400	5700	6000	
20.0	2800	3200	3600	4000	4400	4800	5200	5600	6000	6400	6800	7200	7600	8000	
25.0	3500	4000	4500	5000	5500	6000	6500	7000	7500	8000	8500	9000	9500	10000	
30.0	4200	4800	5400	6000	6600	7200	7800	8400	9000	9600	10200	10800	11400	12000	Inocuo
35.0	4900	5600	6300	7000	7700	8400	9100	9800	10500	11200	11900	12600	13300	14000	
40.0	5600	6400	7200	8000	8800	9600	10400	11200	12000	12800	13600	14400	15200	16000	
45.0	6300	7200	8100	9000	9900	10800	11700	12600	13500	14400	15300	16200	17100	18000	
55.0	7700	8800	9900	11000	12100	13200	14300	15400	16500	17600	18700	19800	20900	22000	
65.0	9100	10400	11700	13000	14300	15600	16900	18200	19500	20800	22100	23400	24700	26000	
75.0	10500	12000	13500	15000	16500	18000	19500	21000	22500	24000	25500	27000	28500	30000	
85.0	11900	13600	15300	17000	18700	20400	22100	23800	25500	27200	28900	30600	32300	34000	

ANEXO 05

**Tabla N° 13: PARAMETROS HEMATOLOGICOS DE RATAS ALBINAS MACHOS
TRATADAS CON *Plukenetia volubilis L.***

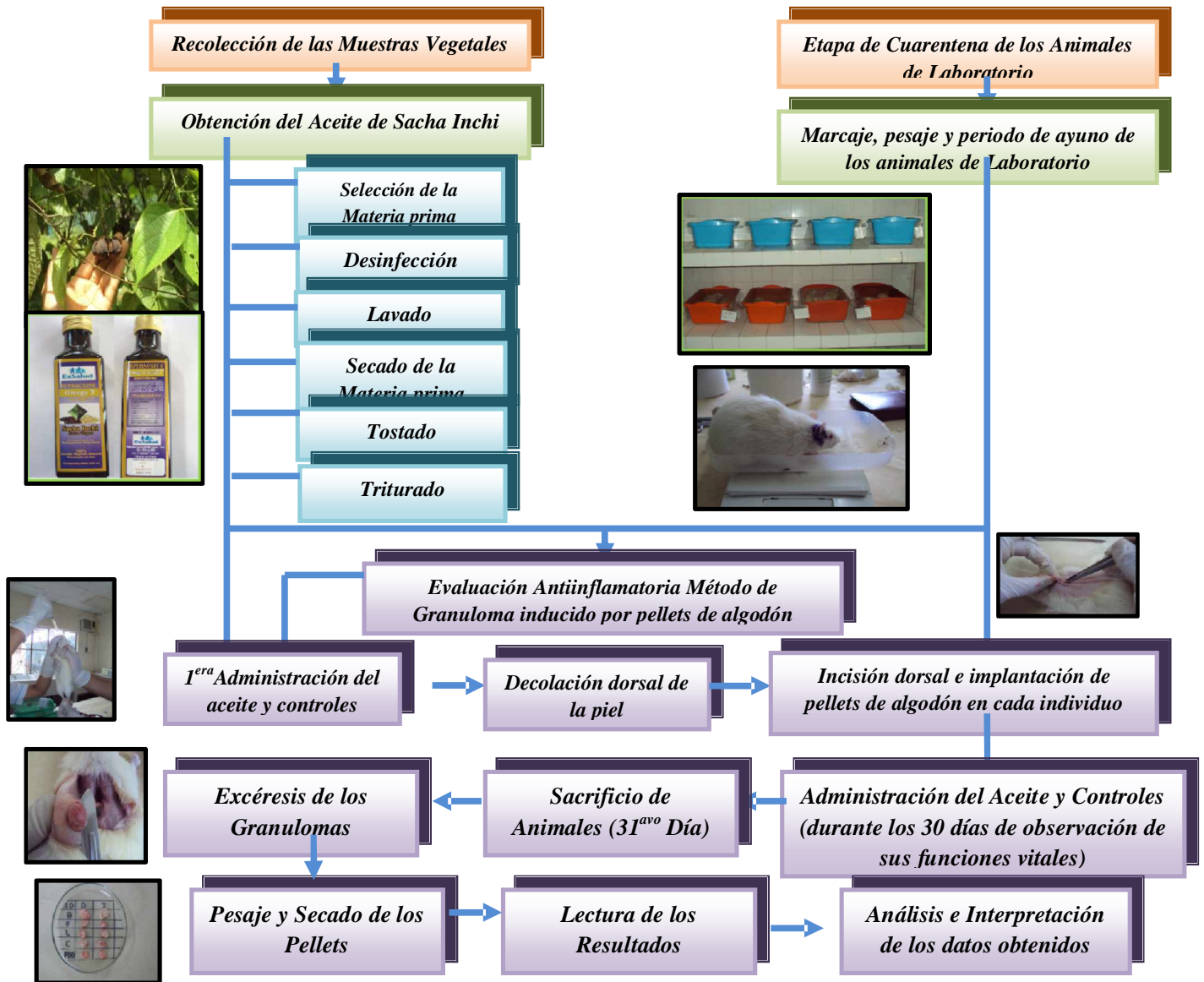
PARÁMETRO	Und.	Basal X ± DS	15 días X ± DS	30 días X ± DS
HEMATOCRITO				
200 µl /Kg	%	48.1 ± 1.3	48.6 ± 1.0	48.5 ± 1.1
400 µl /Kg	%	48.5 ± 1.4	48.2 ± 1.1	48.8 ± 1.0
600 µl /Kg	%	49.6 ± 2.0	47.7 ± 2.5	48.4 ± 2.4
800 µl /Kg	%	47.9 ± 2.0	48.7 ± 2.4	48.9 ± 1.5
Indometacina USP (2.5mg/Kg)	%	49.0 ± 1.4	48.9 ± 1.8	49.1 ± 2.1
Solución Salina 0.9 %	%	49.4 ± 1.9	48.4 ± 2.0	47.3 ± 1.6*
LEUCOCITOS				
P.v. 200 µl /Kg	mm ³	19000 ± 535.4	18140 ± 460.0	17850 ± 359.8
P.v. 400 µl /Kg	mm ³	18870 ± 663.4	18450 ± 643.3*	18110 ± 497.7
P.v. 600 µl /Kg	mm ³	19530 ± 539.7	18960 ± 537.9*	18590 ± 406.7
P.v. 800 µl /Kg	mm ³	19130 ± 783.2	18740 ± 723.0	18380 ± 599.6*
Indometacina USP (2.5mg/Kg)	mm ³	17920 ± 301.1	17470 ± 187.4	17470 ± 305.7*
Solución Salina 0.9 %	mm ³	15950 ± 465.0	17220 ± 561.3	17250 ± 531.8
LINFOCITOS				
200 µl /Kg	%	85.4 ± 2.1	85.2 ± 1.1	85.7 ± 1.1
400 µl /Kg	%	84.5 ± 1.4	85.7 ± 3.4	85.3 ± 2.9
600 µl /Kg	%	83.2 ± 3.0	78.8 ± 2.4*	84.3 ± 2.6
800 µl /Kg	%	84.4 ± 3.4	85.7 ± 3.3	87.3 ± 1.3
Indometacina USP (2.5mg/Kg)	%	85.8 ± 1.8	86.0 ± 2.5	86.5 ± 4.6
Solución Salina 0.9 %	%	90.8 ± 3.3	84.8 ± 2.3	84.2 ± 2.3*
SEGMENTADOS				
200 µl /Kg	%	14.6 ± 2.1	14.8 ± 1.1	14.3 ± 1.1
400 µl /Kg	%	15.5 ± 1.4	14.3 ± 3.4	14.8 ± 2.9
600 µl /Kg	%	16.8 ± 3.0	21.2 ± 2.4*	15.7 ± 2.6
800 µl /Kg	%	15.6 ± 3.4	14.3 ± 3.3	12.7 ± 1.3*
Indometacina USP (2.5mg/Kg)	%	14.2 ± 1.8	14.0 ± 2.5	13.5 ± 4.6
Solución Salina 0.9 %	%	9.2 ± 3.3	15.2 ± 2.3	15.8 ± 2.3*

X±DS: Promedio y Desviación Estándar.

*** p<0.05 vs Basal.**

ANEXO 06

FIGURA N°07. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.



ANEXO 07

FOTO N° 01: Informe de Análisis del aceite de *Plukenetia volubilis* L. utilizada en el ensayo.

SGS

INFORME DE ENSAYO CO1002198

Página 1 de 1

Análisis solicitado por:	SEGURO SOCIAL DE SALUD Pasaje San Lorenzo N° 205 Iquitos Loreto - Perú	
Solicitud de Ensayo:	212106-003	
Producto descrito como:	ACEITE PLUKENETIA VOLUBILIS. LORETO - NAUTA	Cantidad Muestras: 1
Procedencia:	MUESTRA RECIBIDA	Fecha de Recepción: 23/06/2010
Observaciones Recep.:	En frasco de vidrio	Fecha de Ensayo: 24/06/2010
		Fecha de Emisión: 24/06/2010

Ensayo	Método
Acidos Grasos	ISO 5508 : 1990; 2nd Ed. Animal and vegetable fats and oils - Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids

Determinación	Resultado
Palmitico 16:0 (%)	4.6
Palmitoleico 16:1 (%)	0.1
Heptadecanoico 17:0 (%)	0.1
cis-10-Heptadecenoico (%)	0.1
Estérico 18:0 (%)	3.2
Oléico 18:1 w9 (%)	10.0
Linoleico 18:2 w6 (%)	34.4
Linoléico 18:3 w3 (%)	47.0
Araquídico 20:0 (%)	0.1
Gadoléico 20:1 (%)	0.3
Saturados (%)	8.0
Monosaturados (%)	10.5
Polisaturados (%)	81.4
Total Acidos Grasos (%)	99.9

NOTAS:
 * Muestra no sujeta a dirimencia por su perechibilidad y/o muestra única.
 * El tiempo de vigencia del presente informe es de 90 días días calendario; a partir de la fecha de emisión del informe de ensayo.


Reynaldo López

Lab. Instrumental Orgánica

Este documento no podrá ser reproducido total ni parcialmente sin autorización de SGS del Perú S.A.C.
 Los resultados mencionados en este documento proceden de muestras proporcionadas por el cliente o por un tercero a nombre del cliente. La compañía no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas.
 El informe de ensayo sólo es válido para la muestra del prototipo o del lote sometida a análisis, no pudiendo extenderse los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote que no haya sido analizado.
 Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
 SGS Laboratorios Callao está acreditado por Indecopi conforme a los requisitos de NTP ISO/IEC 17025 para los ensayos especificados en el alcance de acreditación, el cual se puede encontrar en www.indecopi.gob.pe
 Este documento es emitido por la Compañía bajo sus Condiciones Generales de Servicio, que pueden encontrarse en la página http://www.sgs.com/terms_and_conditions.htm Son especialmente importantes las disposiciones sobre limitación de responsabilidad, pago de indemnizaciones y jurisdicción definidas en dichas Condiciones Generales de Servicio.
 Se informa a cualquier persona que tenga en su poder este documento, que el contenido del mismo, refleja los hallazgos de la Compañía solo al momento de su intervención y dentro de los límites de las instrucciones del Cliente, si hubiera alguna. La Compañía es únicamente responsable ante su Cliente y este documento no exime a las partes de una transacción de ejercer todos sus derechos y obligaciones en virtud de los documentos de la transacción.
 Cualquier modificación no autorizada, fraude o falsificación del contenido o de la apariencia de este documento es ilegal y los culpables pueden ser procesados con el máximo rigor de la ley.
 No obstante lo estipulado en la Cláusula 6 de las Condiciones Generales de Servicio de SGS, todos los conflictos que se originan en, o que tengan relación con las Relaciones Contractuales reguladas por este contrato, se regirán y serán interpretados de acuerdo con la ley sustantiva de Perú, excluyendo cualquier disposición legal con respecto a los conflictos de leyes y se resolverán finalmente mediante un Arbitraje de Derecho de acuerdo al Reglamento del Centro de Arbitraje Nacional e Internacional de la Cámara de Comercio de Lima, por uno o más árbitros designados de acuerdo con tales reglas. El arbitraje tendrá lugar en Lima (Perú) y será en el idioma español.

SGS del Perú S.A.C. | Av. Elmer Faucett 3348 - Callao | t (51-1) 517 1900 | f (51-1) 575 4089 | www.pe.sgs.com

Última revisión Abril 2010

Miembro del Grupo SGS (Société Générale de Surveillance)

COD. 310

ANEXO 08

FOTO N° 02: Certificado del Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM AMAZONENSE (AMAZ)
Apartado Postal 326 – Telef. 22-2649
E-mail herbarium@amaz.com.pe
Iquitos-Perú

Centro de Estudio, Investigación y Enseñanza

CERTIFICADO

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM AMAZONENSE DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA.

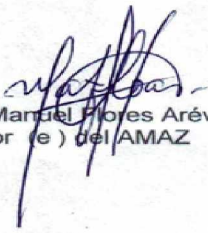
CERTIFICA:

Que, la muestra botánica entregado por el Instituto de Medicina Tradicional-ESSALUD, fue identificado en este Centro de Estudio, Investigación y Enseñanza como a continuación se indica:

Familia	Nombre Científico	Nombre Vulgar	Código
EUPHORBIACEAE	<i>Plukenetia volubilis</i> L.	"Sacha Inchi"	0036532

Se expide el presente Certificado, a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Iquitos, 02 de Setiembre del 2011


Blgo. Dr. Manuel Flores Arévalo
Director (e) del AMAZ



ANEXO 09

FOTO N° 03: Certificado de Salud de los animales de experimentación



**UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

CERTIFICADO

El Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia **CERTIFICA** que los animales que se describen a continuación:

130 Ratas de la cepa Holtzman, machos de 140 a 220 gramos de edad.

Cuentan con un buen estado nutricional, sanitario y clínico importante para este tipo de animales que son utilizados con diversos fines en el área biomédica.

Se expide el presente certificado a Seguro Social de Salud-Es Salud-IQUITOS

Lima, 09 de Junio del 2011

Dr. José Bustamante Velasco
Médico Veterinario del Bioterio de la UPCH

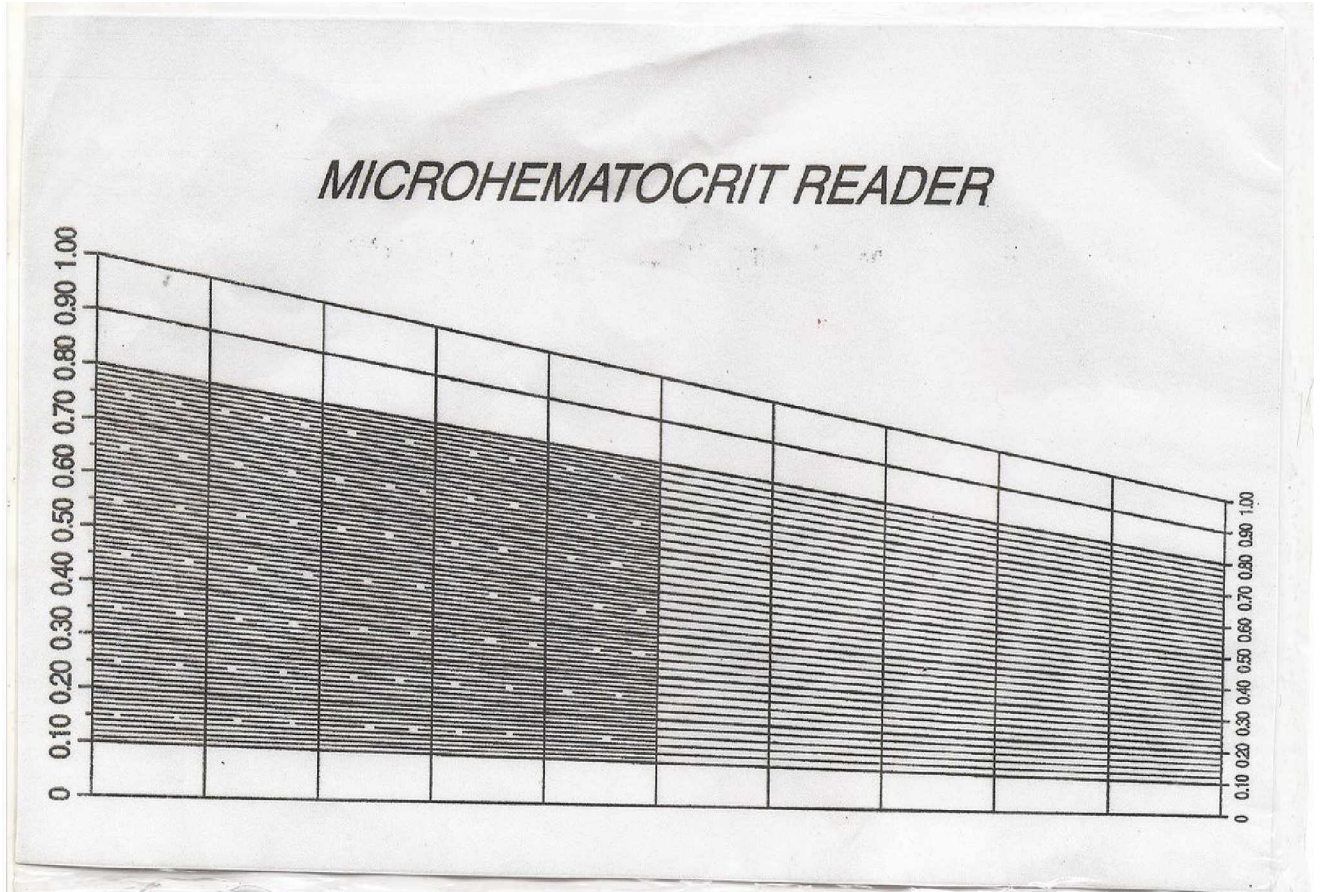
Biólogo José L. Macarlupú B.
Jefe del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

*Presesyl
10/06/11
HS: 13104*

Av. Honorio Delgado 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres
Telef.: 319-0000 / 482-0252 / 482-1130
<http://www.upch.edu.pe>

ANEXO 10

TABLA N° 14: Tabla de Lectura del Hematocrito



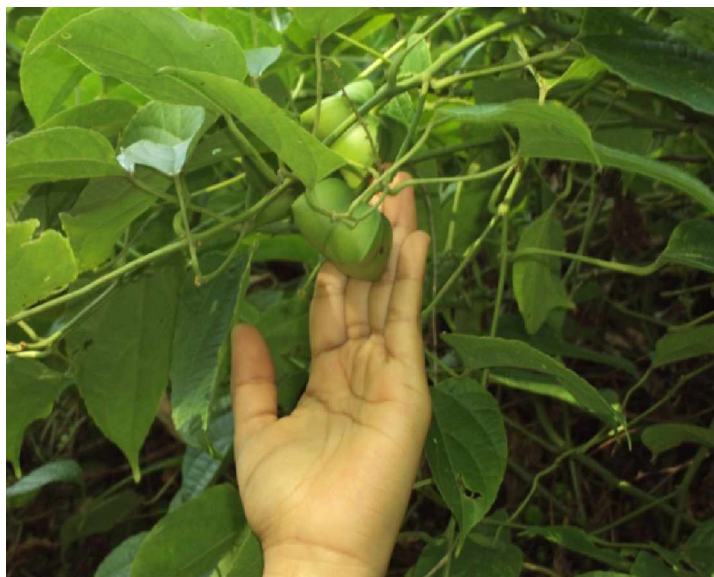
ANEXO 11

FOTO N° 04: Planta de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha Inchi)



ANEXO 12

FOTO N° 05: Fruto de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha Inchi)



ANEXO 13

FOTO N° 06: Nutraceite Omega 3 del IMET de *Plukenetia volubilis L.* (Sacha Inchi)



ANEXO 14

FOTO N° 07: Bioterio del Instituto de Medicina Tradicional –EsSalud



ANEXO 15

FOTO N° 08: Indometacina USP a dosis de 2.5 mg/Kg



ANEXO 16

FOTO N° 09: Pesaje y Esterilización de los Pellets de Algodón



ANEXO 17

FOTO N° 10: Pesaje y Marcaje de los Animales en Experimentación



ANEXO 18

FOTO N° 11: Anestésico General (Halatal) y su Administración Vía Intraperitoneal



ANEXO 19

FOTO N° 12: Depilado de los Animales en Experimentación



ANEXO 20

FOTO N° 13: Pellets de Algodón Esterilizados y Pellets embebidos con Bencilpenicilina Sódica de 1'000,000 UI



ANEXO 21

FOTO N° 14: Incisión Dorsal e Implantación de los Pellets de Algodón



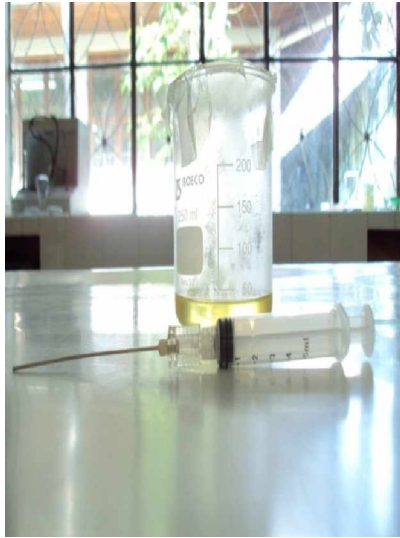
ANEXO 22

FOTO N° 15: Sutura Dorsal de los Animales en Experimentación



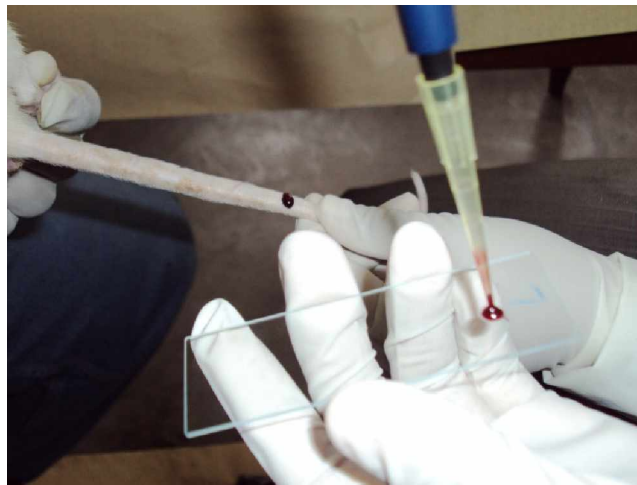
ANEXO 23

FOTO N° 16: Cánula Intragástrica utilizada para la Administración del Nutraceite Omega 3 del IMET



ANEXO 24

FOTO N° 17: Toma de Muestra de la Vena Caudal de la Cola del Animal en Experimentación



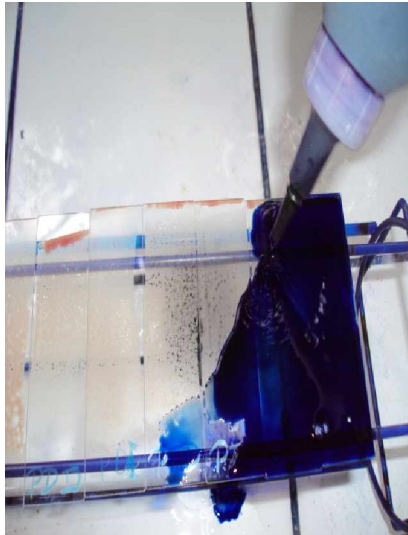
ANEXO 25

FOTO N° 18: Frotis Sanguíneo del Grupo en Experimentación



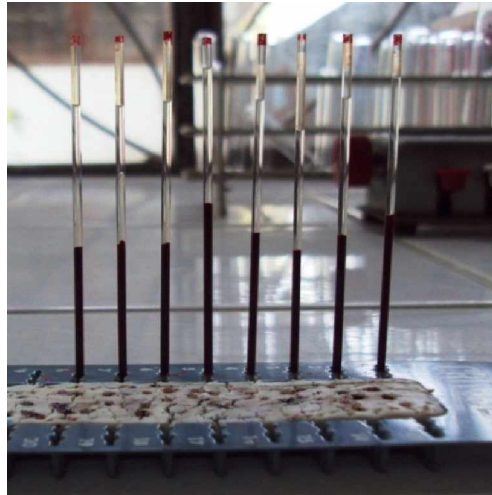
ANEXO 26

FOTO N° 19: Tinción Wright y posterior Lavado de las Láminas con Agua Destilada



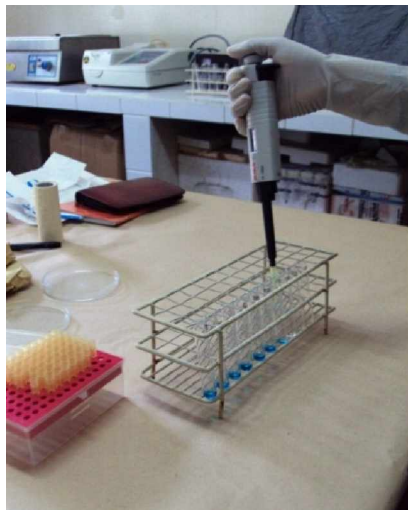
ANEXO 27

FOTO N° 20: Capilares Heparinizados con Muestra Sanguínea para la Lectura del Hematocrito



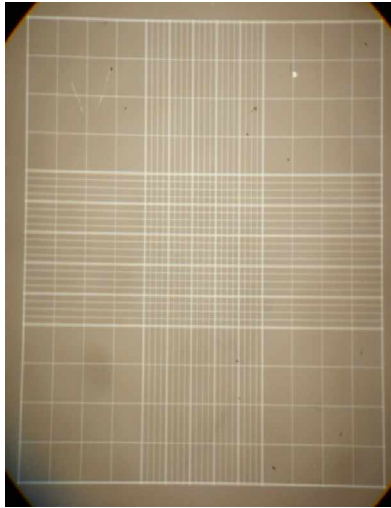
ANEXO 28

FOTO N° 21: Colocando el Reactivo de Turk en los Tubos de Ensayo



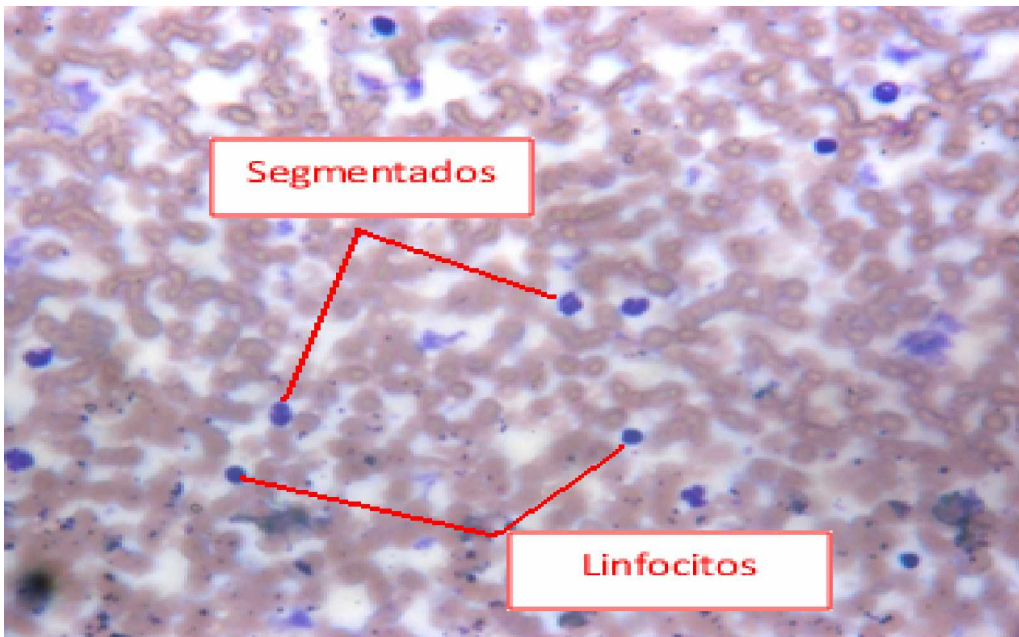
ANEXO 29

FOTO N° 22: Vista Microscópica de la Cámara de Neubauer para la Lectura del Recuento Total de Linfocitos



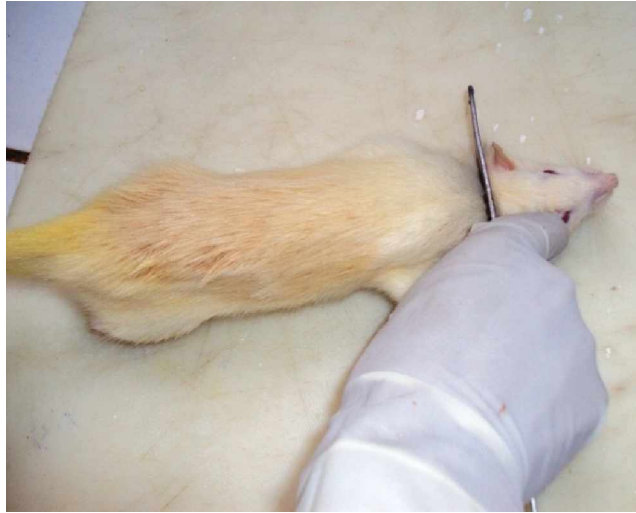
ANEXO 30

FOTO N° 23: Vista Microscópica de 100X para Lectura de Linfocitos y Segmentados



ANEXO 31

FOTO N° 24:Sacrificio de los Animales por la Técnica de Dislocación Cervical



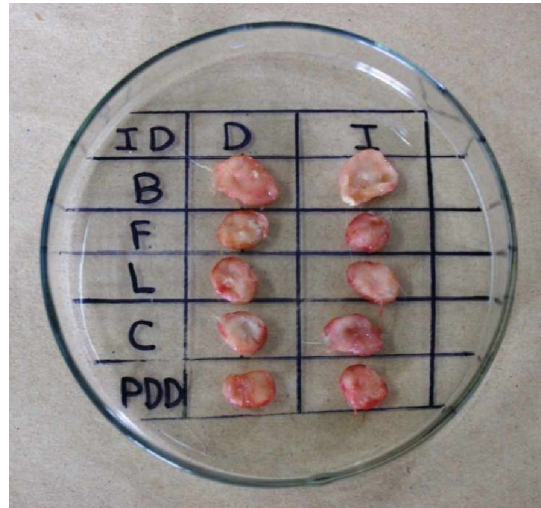
ANEXO 32

FOTO N° 25:Extracción de los Pellets de Algodón



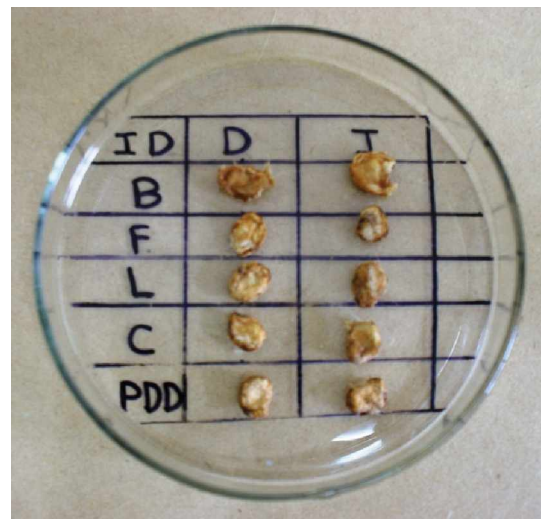
ANEXO 33

FOTO N° 26: Pellets de Algodón Húmedo



ANEXO 34

FOTO N° 27: Pellets de Algodón Seco



ANEXO 35

CUADRO N° 10:Composición del Reactivo de Turk.

TURK

- ☀ Ácido Acético Glacial (4ml).
- ☀ Agua Destilada (Enrazar hasta 200 ml).
- ☀ Azul de Metileno (0.3 gr en 100 ml de Agua Destilada).

ANEXO 36

CUADRO N° 11:Composición de la Tinción de Wright.

WRIGHT

- ☀ Wright (2.70 gr.)
- ☀ Glicerina (30 ml).
- ☀ Metanol (1 Lt.)
- ☀ Triturar el Wright, luego agregar un volumen de glicerina más metanol hasta enrazar 1 Lt.