

JURADO CALIFICADOR

Ing. Reyna Gladys Cárdenas Cárdenas, Mgr.
(PRESIDENTE)

Q.F Luis Alberto Vílchez Alcalá, Mgr.
(MIEMRBO)

Ing. Cleto Jara Herrera
(MIEMBRO)

ASESOR

Q.F Henry Vladimir Delgado Wong
(ASESOR)

“AÑO DE LA PROMOCIÓN DE LA INDUSTRIA RESPONSABLE Y DEL
COMPROMISO CLIMÁTICO”

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

**“ACTIVIDAD INMUNOESTIMULANTE DEL FRUTO DE
Myrciaria dubia H.B.K. Mc Vaugh “camu camu”, en RATAS
ALBINAS HOLTZMANN, Iquitos 2015”**

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

QUIMICO FARMACEUTICO

Presentado por:

Bach. MACEDO RIOS, Robert.

Bach. MENDOZA ACUÑA, Joany Batlu

Asesor:

Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG

Iquitos-Perú

2015

**“ACTIVIDAD INMUNOESTIMULANTE DEL FRUTO DE
Myrciaria dubia H.B.K. Mc Vaugh “camu camu”, en RATAS
ALBINAS HOLTZMANN, Iquitos 2015”**

RESUMEN

Se evaluó la actividad inmunoestimulante del extracto acuoso de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh, conocida como "camu camu" en las instalaciones del laboratorio de Toxicología y Química Legal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNAP. Se realizó un estudio experimental, prospectivo y longitudinal, por medio del ensayo Retículo endotelial de Delaveau en ratas albinas cepa Hotzman, con peso promedio de 200 ± 30 gr de peso corporal. Se estableció 4 grupos experimentales de 10 animales cada uno: 1 grupo de control negativo, 1 grupo de control positivo y 2 grupos experimentales, luego se administró el extracto liofilizado y las sustancias control por 5 días vía oral. Transcurridas 24 horas de la última aplicación, se administró 0.5 ml. de solución de azul de metileno al 10 % en la vena caudal, para después cuantificar la activación linfocitaria a la 1era, 3era, 6ta y 24ava hora.

Se obtuvo la mayor activación linfocitaria en un 74.90% y 76.52% al 5% y 10% (p/v) respectivamente, en 24 horas respecto al control negativo. En el grupo control positivo, se evidencia un mayor porcentaje de activación a la 3^{ra} hora con un valor de **78.97%** respecto al control negativo.

Se concluye que el extracto acuoso de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh "camu camu" contiene propiedades que estimulan el sistema inmunitario.

Palabras Claves: Retículo Endotelial, camu camu, activación linfocitaria, extracto liofilizado.

ABSTRACT

Immunostimulatory activity of aqueous extract of *Myrciaria dubia* H.B. K Mc Vaughn, known as "camu camu" in the laboratory facilities of Toxicology and Legal Chemistry, Faculty of Pharmacy and Biochemistry – UNAP was evaluated. An experimental, prospective and longitudinal study was conducted by the endothelial reticulum test Delaveau in Hotzman strain albino rats, with average weight to 200 ± 30 g body weight. It was based on 4 experimental groups of 10 animals each one: 1 negative control group, 1 positive control group and 2 experimental groups, then the lyophilized extract and Control substances were administered for 5 days orally. After 24 hours of the last dose, were administered 0.5 ml. of methylene blue solution 10% in the caudal vein to quantify lymphocyte activation after the 1st, 3rd, 6th and 24th hour.

The greatest lymphocyte activation was obtained in 74.90% and 76.52% to 5% and 10% (w / v), respectively, in 24 hours compared to negative control. In the positive control group, is evident a higher percentage of activation to the 3rd hour with a value of 78.97% compared to the negative control.

It concluded that the aqueous extract of *Myrciaria dubia* H.B.K Mc Vaughn "camu camu" contains properties that stimulate the immune system.

Keywords: endothelial reticulum, camu camu, Isoprinosine, lymphocyte activation, lyophilized extract.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a las personas que influyeron en mi desarrollo personal y mi futuro profesional, los que me inspiraron siempre a seguir adelante a pesar de las adversidades, para ustedes Robert Macedo y Madeleine Rios los amo mucho.

A mi hermano Andre Macedo, gracias por tu apoyo y espero ser siempre un buen ejemplo para ti. y a toda mi familia en general que siempre están cuando se los necesita.

A mis amigos y Profesores de esta prestigiosa facultad, gracias por sus consejos y enseñanzas y su apoyo en todo momento de mi formación como profesional, no los decepcionare.

A todos los alumnos de esta prestigiosa facultad de farmacia y bioquímica que luchan día a día por ser los mejores y dejar en alto el nombre de nuestra primera casa de estudios.

De: *Robert Macedo Rios*

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mí amada familia: mi hijito precioso Adrianito y mi esposo Martin Gil, porque son mi motivación para salir adelante y por estar siempre en cada momento a mi lado apoyándome durante la realización de esta Tesis.

A mis hermanos: Jorge y Myriam, y a mi sobrinito amado Tyler; para que tengan como ejemplo lo que estoy logrando y sepan que con esfuerzo y dedicación se logran las metas. ¡Los quiero muchísimo!.

A mi Mami Pilar Acuña y mi Papito Jorge Mendoza por su apoyo incondicional y su gran amor. Por creer y confiar siempre en mí, espero no decepcionarlos jamás.

A nuestra casa universitaria Facultad Farmacia y Bioquímica, por acogernos en sus aulas y a todos mis amigos (as) que crecieron junto a mí en nuestra amada carrera.

De: *Joany Batlu Mendoza Acuña*

AGRADECIMIENTO

A Dios por darnos la vida y la oportunidad de ver el amanecer cada día para ser mejor y salir adelante, y por darnos a nuestros Padres que con su ejemplo y enseñanza hemos logrado lo que hoy en día estamos viviendo.

A nuestros asesores HENRY DELGADO WONG y CLAUDIO APAGÜEÑO AREVALO, por todo el apoyo y la paciencia, por enseñarnos y brindarnos sus conocimientos durante nuestra vida universitaria que ya llego a su fin.

A todos nuestros profesores y amigos que tanto influyeron en nuestra formación profesional, gracias por orientarnos y brindarnos sus conocimientos que son útiles en mi vida personal e indispensable en la parte laboral.

INDICE

CAPÍTULO I	01
I. INTRODUCCION	02
Problema de la investigación	04
II. OBJETIVOS	05
2.1 Generales	05
2.2 Específicos	05
CAPÍTULO II	06
III. ANTECEDENTES HISTÓRICO	07
IV. MARCO CONCEPTUAL	10
4.1 <i>Myrciaria dubia</i> H. B. K Mc VAUGH (CAMU CAMU)	10
4.1.1 Clasificación taxonómica	10
4.1.2 Distribución Geográfica	11
4.1.3 Características y Descripción botánica	11
4.1.4 Información etnomedicinal	12
4.1.5 Componentes químicos del Camu camu	13
4.2 SISTEMA INMUNITARIO	15
4.2.1 Mecanismo de defensa	16
4.2.2 Formas de inmunidad	16
4.2.3 Características de la Respuesta inmune	17
4.2.4 Mecanismo de defensa inespecífica	18
4.2.5 Mecanismo de defensa específico	20
4.2.6 Órganos del sistema inmune	20
4.2.7 Células del sistema inmune	22
4.2.8 Complejo Mayor de Histocompatibilidad	24
4.2.9 Memoria inmunológica	24
4.2.10 Alteraciones del sistema inmune	25
4.3 ESTIMULANTES	26
4.4 ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)	27
4.4.1 Deficiencia de Vitamina C: Escorbuto	28
4.4.2 Ingesta diaria de ácido ascórbico	28

V. DEFINICIONES OPERACIONALES	29
5.1 Variables	29
5.2 Indicadores	29
5.3 Operacionalización de variables independientes	30
5.4 Operacionalización de variables dependientes	31
VI. HIPÓTESIS	32
CAPÍTULO III	33
VII. METODOLOGÍA	34
7.1 Metodología de investigación	34
7.2 Población y muestra	35
7.3 Materiales, equipos y drogas	36
7.4 Descripción de los procedimientos	37
7.5 Protección de los derechos de los animales de experimentación	40
CAPÍTULO IV	41
Resultados	42
Discusión	49
Conclusión	52
Recomendaciones	53
Referencias Bibliográficas	54
Anexos	61

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1.- Mecanismos de defensa del sistema inmunológico	17
FIGURA 2.- Descripción de Myrciaria dubia H.B.K. MC Vaugh "camu camu" A) Cultivo Natural camu - camu, B) Planta arbustiva, C) Rama con Inflorescencia, D) Inflorescencia Axial, E) Frutos inmaduros, F) Frutos maduros	66
FIGURA 3.- Recolección de muestra vegetal.	66
FIGURA 4.- Lavado de la muestra vegetal	67
FIGURA 5.- Selección del fruto maduro	67
FIGURA 6.- Pulpa del Camu Camu	67
FIGURA 7.- Animales en cuarentena	67
FIGURA 8.- Identificación de las ratas	67
FIGURA 9.- Pesado de las ratas	68
FIGURA 10.- Corte transversal de la cola	68
FIGURA 11.- Toma de muestra	68
FIGURA 12.- Administración de las sustancias de trabajo	68
FIGURA 13.- Administración del azul de metileno	68
FIGURA 14.- Análisis de las muestras	68

INDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1.- Contenido de ácido ascórbico, proteínas y carbohidratos (mg/100g) en la pulpa de Algunas frutas tropicales maduras	13
TABLA 2.- Análisis químico del fruto de camu camu (g/100g de pulpa)	14
TABLA 3.- Características del sistema inmune innato (inespecífico) y adquirido (especifico).	18
TABLA 4.- Tabla de sustancias administradas por grupos experimentales	34
TABLA 5.- Valores de absorbancia de los grupos experimentales sobre la captación de Azul de metileno en Ratas Albinas Cepa Holtzmann, según tiempo (horas) de evaluación.	42
TABLA 6.- Acción de los diferentes grupos sobre las células linfocitarias y segmentadas en sangre de las Ratas Albinas Cepa Holtzmann, según grupo experimental por tiempo (horas)	44
TABLA 7.- Porcentaje de Activación de la Respuesta del Sistema Inmune en ratas albinas cepa Holtzmann, según grupo experimental por tiempo (horas).	47

INDICE DE GRAFICOS

GRAFICO 1.- Promedios de absorbancia en sangre en los diferentes grupos de experimentación según tiempo (horas) de evaluación	43
GRAFICO 2.- Promedios de células linfocitarias de acuerdo a los grupos experimentales	45
GRAFICO 3.- Promedios de células segmentadas de los diferentes grupos experimentales	46
GRAFICO 4.- Porcentaje de Activación de la Respuesta del sistema Inmune de los diferentes grupos experimentales	48

INDICE DE FICHAS

FICHA 1.- Recolección de datos para la evaluación inmunoestimulante	62
FICHA 2.- Recolección de los resultados del efecto inmunoestimulante	63

CAPITULO I

I. INTRODUCCION

Los trastornos debidos a inmunodeficiencia son un grupo de enfermedades diversas en las que el sistema inmunitario no funciona de forma adecuada, y en consecuencia las infecciones son más frecuentes, por lo general son graves y duran más de lo habitual. ⁽¹⁾

La aparición de estados de inmunodepresión asociados a diversos procesos patológicos tales como neoplasias, infecciones o algunas enfermedades auto inmunes, ha generado en los últimos años, el interés por el desarrollo de agentes inmunoestimulantes capaces de aumentar la respuesta inmune en estos pacientes ⁽²⁾

El uso de Inmunoestimulantes se ha vuelto más común en los últimos años debido a la necesidad de prevenir diferentes infecciones como las respiratorias agudas en las consultas diarias tales como resfríos virales, gripe, rinitis, amigdalitis, sinusitis, etc. Sin embargo, su administración ha sido más bien empírica, ya que sus bases inmunológicas y clínicas no han sido muy difundidas. ⁽³⁾

Dentro de las sustancias inmunomoduladoras ocupan un lugar muy importante los agentes inmunopotenciadores, a los cuales se les atribuyen 2 funciones fundamentales: la estimulación de la resistencia no específica del huésped contra las enfermedades infecciosas y el cáncer; y, por otra parte, la potenciación de la inmunogenicidad de las vacunas comerciales y de la respuesta de los animales de laboratorio durante la inmunización experimental con vistas a la producción de antisueros. ⁽⁴⁾

Las enfermedades que afectan el sistema Inmunológico, como el Cáncer y el Sida, se resisten a ser controladas, desafiando los tratamientos dirigidos a su erradicación, siendo causas frecuentes de mortalidad en personas de todas las edades a nivel mundial. ⁽⁵⁾

En Loreto la principal causa de muerte son las enfermedades respiratorias especialmente la neumonía durante la temporada de friaje, las prolongadas lluvias generan una humedad del 100% que afecta a los infantes y según el área de residencia es mayor entre los niños que residen en el área rural que los que residen en el área urbana. ⁽⁶⁾

La medicina tradicional sigue desempeñando un papel esencial en la asistencia sanitaria, especialmente en el ámbito de la atención primaria de salud. Se calcula que los medicamentos tradicionales son utilizados por el 60% de la población mundial y en

algunos países están ampliamente incorporados al sistema público de salud. El uso de plantas medicinales es el medio de tratamiento más común en la medicina tradicional y la medicina complementaria en todo el mundo. ⁽⁶⁾

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2002 lanzó una estrategia sobre medicina tradicional, para facilitar a los países la exploración de las posibilidades 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 una utilización inadecuada. La finalidad de la estrategia es alentar la realización de investigaciones. ⁽⁷⁾

En muchos sistemas de salud de América, Asia y Europa; es frecuente el uso de drogas vegetales y de fitomedicinas, como parte integral de la medicina convencional. En estos casos, basándose en información médica tradicional, ha sido posible para la medicina científica validar la acción terapéutica y establecer los correctos usos de los recursos vegetales. ⁽⁸⁾

El Perú es uno de los 12 países mega diversos del planeta; posee alrededor del 10% de especies de la flora mundial, (25 000 especies) de las cuales, 30% son endémicas; ocupa el primer lugar en número de especies de plantas con propiedades medicinales utilizadas por la población (4400 especies). ⁽⁹⁾

Las plantas usadas en la medicina tradicional se constituyen en una fuente casi inagotable de moléculas, cuyo análisis se está facilitando por la disponibilidad de bioensayos in vitro e in vivo. ⁽¹⁰⁾

En la Amazonía; la historia de las plantas medicinales no sería tal sin los hombres y mujeres que han utilizado las plantas del sitio en el que vivían. El uso y conocimiento lo obtuvieron presuntamente a través de pruebas de ensayo acierto-error, llegando a conocer y aprender el uso de un número significativo de plantas. ⁽¹¹⁾

En este trabajo se demostró la importancia de modular la respuesta inmune, es decir, para lograr que sea más intensa y larga, no basta solamente con el medicamento específico, ya que es importante que las células proliferen y efectúen bien su función, para ello, es necesario una serie de substratos indispensables en el metabolismo de estas, y que; si están ausentes no se logra la respuesta inmune esperada.

Por lo manifestado y conocido anteriormente en el presente trabajo de investigación nos planteamos la siguiente interrogante:

¿Tendrá el fruto de *Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh "camu camu" actividad inmunoestimulante en ratas albinas mediante el Ensayo de Estimulación del Retículo Endotelial de Delaveau y Col?

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Determinar la actividad inmunoestimulante del fruto de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu", en ratas albinas cepa Holtzmann.

2.2 Objetivos Específicos

1. Obtener la pulpa del fruto maduro de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu", para los extractos acuosos al 5% y 10% (p/v).
2. Evaluar la actividad inmunoestimulante del extracto acuoso al 5% y 10% (p/v) del fruto maduro (pulpa) de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu", mediante el ensayo de Estimulación del Retículo Endotelial de Delaveau y Col.
3. Evaluar la actividad Inmunoestimulante del extracto acuoso al 5% y 10% (p/v) fruto maduro (pulpa) de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu", mediante el recuento linfocitario diferencial.
4. Evaluar la actividad Inmunoestimulante del extracto acuoso al 5% y 10% (p/v) del fruto maduro (pulpa) de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu", mediante el porcentaje de activación del sistema inmune.
5. Comparar la actividad Inmunoestimulante del fruto maduro (pulpa) de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu" con relación al grupo control positivo Isoprinosine.

CAPITULO II

III. ANTECEDENTES HISTORICO

Castro, G., et al (2013), determinaron la variación del contenido de vitamina C y antioxidantes en *Myrciaria dubia* “CAMU CAMU” en sus frutos, principalmente por la influencia de factores genéticos. También, ambos compuestos tienen gradientes de concentración desde la cáscara hasta el centro de frutos verdes (excepto las antocianinas) y maduros. Además, en los frutos maduros existe correlación positiva entre el contenido de vitamina C y antocianinas de la cáscara y la pulpa en contacto con ésta. Adicionalmente, la vitamina C y las antocianinas, particularmente la cianidina-3-glucósido, son sintetizadas en el proceso de germinación y crecimiento inicial. ⁽¹²⁾

Alvis, Rafael (2010). Estudió el efecto antimutagénico y citoprotector del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* H.B.K Mc Vaugh “camu camu”, frente al daño producido por el Fluoruro de sodio. Evaluó la capacidad protectora en eritrocitos policromáticos de médula ósea del ratón. Determinó que a mayor concentración del extracto acuoso del fruto, hubo un mayor efecto antimutagénico y citoprotector sobre eritrocitos de la médula ósea de ratón, contrarrestando los efectos deletéreos del fluoruro de sodio. ⁽¹³⁾

Alvis, R., et al. (2010). Evaluó *in vivo* la capacidad citoprotectora del fruto de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh Camu-camu frente al daño mutagénico producido por bromato de potasio (68,5 mg/k) sobre tres líneas celulares de ratón (hígado, riñón y células sanguíneas). El tratamiento con camu-camu continuo 35 días más, luego los ratones fueron eutanizados para determinar la frecuencia del daño al DNA mediante el protocolo del ensayo cometa alcalino. El grupo TII mostró en todas las líneas celulares el efecto citoprotector del camu-camu ($p < 0,05$). El efecto dañino al DNA por la acción oxidativa del $KBrO_3$ es inhibido por el extracto acuoso del fruto de camu camu, probablemente por la presencia de los agentes antioxidantes como el Ácido ascórbico y los flavonoides. ⁽¹⁴⁾

Guija, E., et al. (2010). Realizaron su investigación en la Cinética de degradación térmica de Vitamina C y capacidad antioxidante de Camu Camu (*Myrciaria dubia*) y mandarina (*Citrus reticulata*), determinaron que la vitamina C se degradó acorde con una cinética de primer orden, tanto en la mandarina como en el camu camu. La energía de activación de la vitamina C se determinó utilizando la ecuación de Arrhenius, en la mandarina fue de 21,2 kJ/mol, mientras que en el camu camu fue de 10,18 kJ/mol.- La capacidad antioxidante de la mandarina también fue afectada por acción de la temperatura, el valor

de la energía de activación fue de 8,11 kJ/mol, mientras que el camu camu mostró un comportamiento binodal, con dos diferentes energías de activación: 6,24 kJ/mol y 97,69 kJ/mol. ⁽¹⁵⁾

Villanueva, J., et al. (2010). Evaluaron el contenido de antocianinas, ácido ascórbico y polifenoles totales, en la cáscara fresca y seca de camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K Mc Vaugh) en diferentes estados de madurez, evaluaron la actividad antioxidante en la cáscara seca usando diferentes tipos de radicales y correlacionaron el valor de ácido ascórbico y polifenoles totales con la actividad antioxidante. El extracto de la cáscara de la muestra madura fresca mostró la concentración más elevada de ácido ascórbico y antocianinas en relación al pintón y verde. La mayor actividad antioxidante, fue en los extractos de la cáscara seca de muestra pintón, con IC50 = 46,20; 20,25 y 8,30 µg.mL⁻¹ frente a los radicales DPPH, ABTS⁺ y Peroxilo respectivamente. ⁽¹⁶⁾

Sotero, V., et al. (2009). Realizó la determinación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del Camu camu (*Myrciaria Dubia*) colectado en el banco de Germoplasma del INIA-Loreto, mediante el secuestro de radicales libres del DPPH. Observaron que los mejores resultados en cuanto a la actividad antioxidante la presentó la cáscara de camu camu con IC50 de 146,94 µg/ml, seguido de la pulpa con 167,67 µg/ml y con menor actividad la semilla con 399,77 µg/ml. Las concentraciones de ácido ascórbico en peso seco, reportan la mayor concentración en pulpa: 14337,94 mg/100g y cáscara: 10506,37 mg/100g, siendo inferior en semilla: 87,08 mg/100g. En la pulpa y cáscara del camu camu se encontraron ácido clorogénico, catequina, epicatequina y rutina, destacando la catequina en cáscara con 47,29 mg/100g. ⁽¹⁷⁾

Pacci, K., et al. (2009). Compararon el efecto de la crema a base de *Myrciaria dubia* con el efecto antibiótico de la crema de sulfadiazina argéntica. Microscópicamente se observó similar infiltración leucocitaria en la dermis y en el estrato seroso en los grupos camu-camu y sulfadiazina argéntica, y ambas fueron menores que en la del grupo control. Utilizando la prueba ANOVA, se observó que, a pesar de que la cantidad de fibroblastos en el grupo camu-camu era ligeramente mayor que en la de sulfadiazina argéntica, la diferencia no era estadísticamente significativa. La presencia de epidermis en el grupo Camu-Camu, a diferencia de los demás grupos, se puede deber a una mayor de activación de células basales o a una detención de los procesos oxidativos debido a la propiedad antioxidante de este fruto. ⁽¹⁸⁾

Castañeda C. B., et al (2008). Evaluaron la capacidad antioxidante de veintinueve extractos de plantas medicinales entre ellos el *Myrciaria dubia* “camu camu” por el método de la decoloración del radical 2,2-difenil-1picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados obtenidos al evaluar la capacidad antioxidante a las concentraciones de 1 ug/mL, 50 ug/mL, 100 ug/mL y 200 ug/mL fueron en el camu camu (E. Metanólico del fruto) 98.09% a 50 ug/mL, en comparación con el ácido ascórbico (Vitamina C) que presentó una actividad antioxidante en promedio de 92.82%.⁽¹⁹⁾

Muñoz, J., et al (2007), Evaluó la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en la parte comestible de aguaymanto, carambola, tomate de árbol, yacón, tumbo costeño, tumbo serrano, noni, camu-camu y guinda. Obtuvieron como resultado que poseen actividad antioxidante muy elevada el camu camu y el tumbo serrano; elevada la guinda, el noni y el yacón; moderada la carambola, el aguaymanto y el tomate de árbol y baja el tumbo costeño. Existe una correlación directa entre los valores TEAC y VCEAC y los valores de compuestos fenólicos totales, lo que explica que las frutas de mayor poder antioxidante, como es el camu-camu y el tumbo serrano, contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos, recomendándose el consumo de estos frutos promisorios en una alimentación saludable para una mejor calidad de vida.⁽²⁰⁾

Guija, H., et al. (2005). Determinaron el efecto del ion férrico sobre las propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria Dubia*), fruto caracterizado por tener un elevado contenido de vitamina C, frente a Fe (III), etilendiamino tetraacético (EDTA), tiourea y manitol. El camu camu en presencia de Fe-II en tampón fosfato a pH7.4 incrementó notablemente la generación de radicales libres a través de una cinética de saturación, efecto que fue dependiente de la concentración del metal. La presencia de tiourea o manitol, compuestos de conocida acción antioxidante, inhibieron la formación de radicales libres, en cambio el EDTA lo incrementó.⁽²¹⁾

Vega, Rodney (2002). Realizó estudios que indican que el camu-camu se caracteriza por su alto contenido de ácido ascórbico, habiendo sido determinados valores que varían entre 2780 mg. (Instituto Nacional de Nutrición del Perú, 1996), 2994 mg (Villachica et al., 1996), 2780 mg (Villachica, 1996), en comparación con su más cercano competidor, la acerola con 1300 mg (Villachica et al. 1998) y 1790 mg. (Instituto Nacional de Nutrición del Perú, 1996; Instituto Nacional de Nutrición de Buenos Aires, en Riva y Gonzales, 1996) en pulpa fresca, superando también a frutos cítricos como el limón, naranja y otros.

Este alto contenido de ácido ascórbico lo hace muy importante en la industria farmacéutica y la Agroindustria, generando un interés creciente. Estudios posteriores indican que la especie *Myrciaria dubia* tiene un contenido de ácido ascórbico mayor (2780 mg) que la especie *Myrciaria sp.* (1526 mg) por cada 100 g. de pulpa fresca. ⁽²²⁾

IV. MARCO CONCEPTUAL

4.1 *Myrciaria dubia* H. B. K Mc VAUGH (CAMU CAMU)

4.1.1 CLASIFICACION TAXONÓMICA:

Reino	:	Vegetal
División	:	Fanerógamas
Subdivisión	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledóneas
Orden	:	Myrtales
Familia	:	Myrtaceae
Género	:	Myrciaria
Especie	:	<i>Myrciaria dubia</i> dubia H. B. K.
Nombre Científico	:	<i>Myrciaria dubia</i> H. B. K Mc Vaugh ⁽²³⁾
Nombre Comunes	:	“camu camu”/ Vitamina C Natural, camu camu negro, “caçari”, araçá, guapuro blanco, "araçá-d' agua", araçá-d' igapó, azedinha rumberry, algracia, guayabillo blanco, guayabito, limoncillo (Venezuela), azedinha, cacari, miraúba y muraúba (Brasil). ⁽²⁴⁾
Sinonimias	:	<i>Myrciaria divaricata</i> (Bentham) O. Berg <i>Myrciaria paraensis</i> O. Berg <i>Myrciaria spruceana</i> O. Berg <i>Psidium dubium</i> H.B.K ⁽²⁴⁾

Se ha clasificado como *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh y como *Myrciaria paraensis* Berg (Mc Vaugh, 1958, 1963), pero los taxónomos han optado por *M. dubia* debido a que ésta fue la primera denominación válida utilizada. Las principales diferencias entre

éstas dos variedades de “camu camu” son; en que una es arbustiva (*Myrciaria dubia*) y la otra arbórea (*Myrciaria spp*).⁽²⁰⁾

4.1.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA:

El fruto de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh. “Camu camu; es una especie originaria de la cuenca occidental del Rio Amazonas, a partir de la cual se halla en zonas de la amazonía Peruana, Colombia, Brasileira y Venezolana. Crece en las restingas de Loreto, donde se concentra la totalidad de rodales naturales del Perú. El Proyecto UE-Perú en Materia de Asistencia Técnica relativa al Comercio (2009), estima que en la amazonia peruana existen alrededor de 1860 hectáreas de Camu camu, de los cuales un 60% correspondería a los rodales naturales, y están ubicados en las zonas con elevados niveles de pobreza, provincias como: Maynas y Requena en el departamento de Loreto; mientras que en San Martín y Ucayali se encuentran cultivos introducidos y manejados.⁽²⁴⁾

Se encuentra solo en territorios con más de 1500 mm de precipitación anual a temperaturas sobre 20°C. Una altitud de más de 200-300 msnm parece ser el límite superior para la distribución de la especie.⁽²⁵⁾

Myrciaria dubia, Myrtaceae, es un frutal arbustivo silvestre de la Amazonia. Crece en las riberas inundables de los ríos y cochas de aguas oscuras y puede permanecer completamente sumergido en agua durante cuatro o cinco meses (Peters y Vasquez, 1986). Se conoce que también se adaptan fácilmente a suelos con buen drenaje y regímenes hídricos con sequía de hasta 2 meses.⁽²⁶⁾

4.1.3 CARACTERISTICAS Y DESCRIPCION BOTÁNICA:

El *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh “camu camu” es un arbusto que puede llegar a medir hasta 4 m de altura; se ramifica desde su base formando varios tallos secundarios. El tallo y las ramas son glabros, cilíndricos, lisos, de color marrón claro o rojizo y con corteza que se desprende de forma natural. Sus raíces son profundas y con muchos pelos absorbentes. Las hojas pueden variar entre 4,5 y 12 cm de longitud y el ancho entre 1,5 y 4,5 cm; presentan el ápice muy puntiagudo y la base redondeada. La inflorescencia es axilar, pétalos en número de cuatro, color blanco. Cuenta con 125 estambres con 7 a 10 mm de largo; anteras con 0,5 a 0,7 mm de largo. Cáliz con los sépalos diferenciados; el ovario de posición ínfero y androceo.⁽²⁷⁾

La floración de un individuo ocurre en forma continua. Las yemas florales emergen desde las ramas superiores hacia las ramas inferiores. Por lo tanto, puede presentar yemas florales, flores y frutos en varios estados de desarrollo al mismo tiempo ⁽²⁶⁾

El fruto del *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh “camu camu” es globoso de superficie lisa y brillante, puede presentar color rojo oscuro y variar hasta negro púrpura al madurar; de diámetro entre 2 a 4 cm; con una a cuatro semillas por fruto, encontrándose más frecuentemente de dos a tres semillas y de un peso promedio alrededor de 8.4 g por fruto. Las semillas son reniformes, aplanadas con tamaño entre 8 a 11 mm de longitud y 5.5 a 11 mm de ancho, cubiertas por una vellosidad blanca rala de menos de un mm de longitud. ⁽²⁷⁾

4.1.4 INFORMACION ETNOMEDICINAL:

Parte usada de la planta: Fruto, raíz, tallos y hojas.

Forma de preparación: Maceración, cocimiento, emplasto, infusión.

Según una base de datos de la empresa comercial Rain-Tree, no se cuenta con documentación sobre el uso del Camu camu como medicina tradicional entre los indígenas de la Amazonía. Como los frutos son ácidos, aparentemente tampoco se interesaron por ellos como alimento. Sin embargo, el Camu camu se ha vuelto recientemente popular en Perú y Brasil como jugo y también como ingredientes para hacer chupetines, helados y bebidas. ⁽²⁸⁾

La corteza de camu camu es empleada para preparar el licor Siete Raíces, junto con otras especies, macerándolas en aguardiente por siete días para el tratamiento del reumatismo. La corteza y la raíz en cocimiento se ingieren como agua de tiempo para el reumatismo y las diarreas. Para dolores musculares se utiliza la corteza raspada, a la que se agrega agua hervida para recibir los vapores (ligadas) y colocarla sobre la zona adolorida. Las hojas trituradas son sumergidas en agua, con la que se remoja la cabeza o se ingiere como bebida refrescante contra la fiebre, dolor de cabeza y calentura interna. (IIAP, 2001) ⁽²⁴⁾

De acuerdo a la Etnobotánica Elsa Rengifo del IIAP se utiliza tradicionalmente en Loreto, para curar las siguientes enfermedades: asma, arterosclerosis, cataratas, depresión, gripe, gingivitis, glaucoma, hepatitis, infertilidad migraña, osteoporosis y parkinson. Asimismo como analgésico, antiviral y antioxidante. ⁽²⁴⁾

La forma de presentación más utilizada es como extracto o jugo fresco del fruto maduro y en un segundo orden la cocción de la corteza y el tallo; la maceración generalmente se hace en alcohol. Por sus bajos precios en el mercado se ha convertido en una bebida popular para preparar refrescos o bebidas e incluso bebidas alcohólicas fermentadas es de común uso al medio día como parte del menú familiar. ⁽²³⁾

Se utiliza como fuente importante de Vitamina C natural, la misma que tiene gran relevancia en la industria cosmética para contrarrestar el envejecimiento prematuro al estimular la síntesis de colágeno en los fibroblastos entre otros; se describe que su aplicación tópica, protege. Por lo tanto previene, el envejecimiento en células de piel humana en cultivo y sometido a un fuerte estímulo de oxidación con peróxido de hidrógeno muestra el efecto protector de la vitamina C. ⁽²⁴⁾

4.1.5 COMPONENTES QUIMICOS DEL CAMU CAMU

El principal componente reportado en el camu camu es la vitamina C; cuantificándose la vitamina C total (ác. ascórbico y ácido dihidroascórbico), cuyos valores se encuentran entre los 2 000 y los 2 994 mg/100g de pulpa fresca (Ferreyra, 1959; Roca, 1965) ha despertado gran interés en el mercado mundial, dentro del cual Japón, Francia y Estados Unidos son los principales importadores. ⁽²⁹⁾

TABLA N° 01: Contenido de ácido ascórbico, proteínas y carbohidratos (mg/100g) en la pulpa de algunas frutas tropicales maduras

Fruta	Ácido ascórbico	Proteína	Carbohidratos
Piña	20	0,4	9,8
Maracuyá (jugo)	22	0,9	15,8
Fresa	42	0,7	8,9
Limón (jugo)	44	0,5	9,7
Guayaba	60	0,5	14,9
Naranja ácida	92	0,6	10,1
Marañón	108	0,8	10,5
Acerola (total)	1.300	0,7	6,9
Camu Camu total	2.780	0,5	5,9

- Fuente: Villachica (1996) ⁽²⁵⁾

Se reportó compuestos volátiles como el alfa-pineno, d-limoneno en las hojas (Quijano & Pinol 2007), antocianinas como el cianidina-3-glucosido; como principal pigmento en esta fruta, se encontraron 11 compuestos fenólicos y 7 minerales en su composición. (Zapata, 1993); algunos autores encontraron otros compuestos como carotenoides, ac. Grasos, aminoácidos (el cual variaba según el estado del fruto).⁽²⁴⁾

En estudios posteriores por el IIAP en el 2002, indican que la especie *Myrciaria dubia* tiene un contenido de ácido ascórbico mayor (2780 mg) en relación al contenido de algunas vitaminas.⁽²⁵⁾

Según un documento publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) en 1993, el principal uso potencial atribuible al camu camu es como fuente de vitamina C, puesto que puede alcanzar 2.99g/100g en la fruta fresca.⁽²⁵⁾

TABLA N° 02: Análisis químico del fruto de camu camu (g/100g de pulpa)

Componentes	(g)	Minerales	(mg)	Vitaminas	(mg)
Calorías	17,0	Calcio	27,0	Caroteno	Porcentaje mínimo
Humedad	94,4	Fósforo	17,0	Tiamina (Vit.B1)	0,01
Proteínas	0,5	Hierro	0,5	Riboflavina (Vit.B2)	0,04
Aceite	-			Niacina (Vit.B5)	0,62
Carbohidratos	4,7			Ácido ascórbico reducido	2.880,00
Fibra	0,6			Ácido ascórbico total	2.994,00
Ceniza	0,2				

- Fuente: Chávez Flores (1993)⁽²⁵⁾

El camu camu es una fuente vegetal importante sobre todo porque el hombre ni los animales pueden sintetizar vitamina C, es necesaria para la formación de colágeno, correcta cicatrización de heridas, reparación y mantenimiento de los tejidos de las diferentes partes del cuerpo y también para la síntesis o producción de hormonas y neurotransmisores. Al igual que otras vitaminas es un poderoso antioxidante.⁽²⁴⁾

Se piensa que el Camu camu tiene propiedades astringentes, antioxidantes, antiinflamatorias, emolientes y nutricionales. Su gran poder antioxidante se mide por su

actividad inhibidora de radicales DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), que, se dice, sobrepasa a la vitamina C pura y al Trolox.⁽²⁸⁾

El Camu camu se está haciendo conocido por contener más vitamina C que ninguna otra planta conocida a nivel mundial. De hecho contiene de 30 a 60 veces la cantidad de vitamina C de la naranja. También tiene los aminoácidos serina, valina y leucina, así como un importante porcentaje de beta caroteno, calcio, hierro, niacina, fósforo, riboflavina y tiamina.⁽³⁰⁾

4.2 SISTEMA INMUNITARIO

Un sistema inmunológico es un sistema de estructuras y procesos biológicos en el interior de un organismo que protege contra enfermedades identificando y matando células patógenas y tumorales. Detecta una amplia variedad de agentes, desde virus a gusanos parásitos, y necesita distinguirlos de las propias células y tejidos sanos del organismo para funcionar correctamente. La detección es complicada ya que los patógenos pueden evolucionar rápidamente, produciendo adaptaciones que eviten el sistema inmunitario y permiten a los patógenos infectar con éxito sus huéspedes. (Beck, Gregory)⁽³¹⁾

El sistema inmunológico del organismo consiste en dos componentes principales: los linfocitos B y los linfocitos T. los linfocitos B derivan principalmente de las células de la médula ósea en los animales superiores. Las células B son las responsables de la síntesis de los anticuerpos humorales circulantes, también conocidos como inmunoglobulinas. Las células T participan en una gran variedad de procesos inmunológicos mediados por células como el rechazo de injertos, las reacciones de hipersensibilidad y la defensa contra células malignas y muchos virus.⁽³²⁾

Existen dos tipos de mecanismo de defensas: humorales y celular. Ambos reaccionan a los antígenos, usualmente proteínas extrañas al cuerpo como las bacterias o los tejidos extraños. La inmunidad humoral es la inmunidad debida a los anticuerpos circulantes en la fracción de γ -globulinas de las proteínas plasmáticas. Es una defensa importante contra las infecciones bacterianas. La inmunidad celular es responsable de las reacciones alérgicas retardadas y los rechazos de trasplantes de tejido extraño. Constituye una

importante defensa contra las infecciones debidas a virus, hongos y algunas bacterias como el bacilo tuberculoso.⁽³³⁾

4.2.1 MECANISMOS DE DEFENSA

Nuestro organismo cuenta con una serie de mecanismos de defensa para protegernos de los elementos extraños que existen en el medio ambiente. Estos mecanismos los podemos dividir en tres niveles distintos:

a. Nivel externo inmediato: formado por las barreras cutáneas como la piel (con una capa de queratina), el epitelio respiratorio (con cilios que limpian su superficie), las mucosas (secreciones), la flora intestinal o vaginal (impiden la colonización de patógenos), el peristaltismo intestinal, la acidez gástrica.⁽³⁴⁾

b. Nivel intermedio: formado por células de defensa del sistema fagocítico mononuclear, los linfocitos "NK", enzimas de inmunidad inespecífica como la lisozima, la proteína reactante de fase aguda, el sistema del complemento, el interferón, etc.⁽³⁴⁾

c. Tercer nivel (Respuesta inmune): formado por un sistema de defensa complejo que se va desarrollando con la evolución y que actúa mediante factores celulares (linfocitos T) y factores humorales (anticuerpos).⁽³⁴⁾

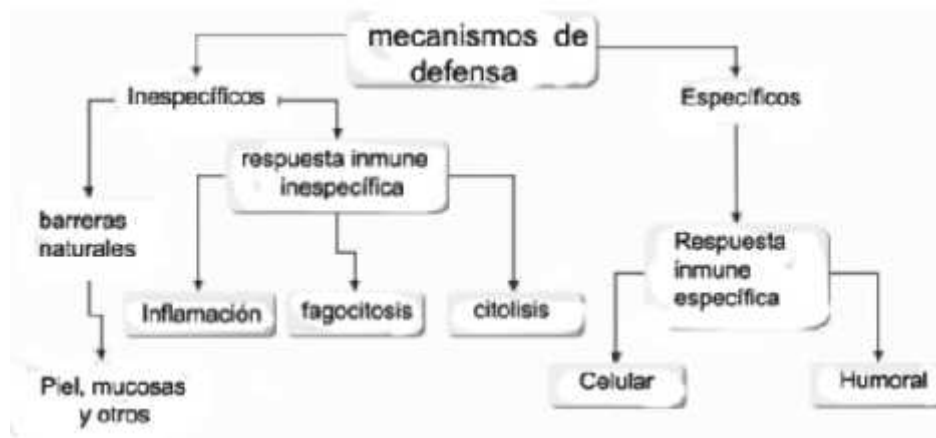
4.2.2 FORMAS DE INMUNIDAD:

a. La inmunidad innata (Mecanismo de defensa Inespecíficos) reacciona de igual manera para todos los microorganismos y a ella pertenecen los mecanismos de defensa del nivel externo e intermedio.⁽³⁴⁾

b. La inmunidad adaptativa o adquirida (Mecanismos de defensa específicos) (el tercer nivel) está formada por el sistema inmune y es la más compleja pero no aparece hasta que el organismo no es atacado por primera vez y necesita un tiempo para desarrollarse. Según el tipo de células que utilice en su respuesta, la podemos dividir en dos:

- **Inmunidad celular:** En ella participan los linfocitos T, es el principal mecanismo de defensa frente a microorganismos intracelulares. ⁽³⁴⁾
- **Inmunidad humoral:** En ella participan los anticuerpos (inmunoglobulinas) que son producidos por los linfocitos B. Es el principal mecanismo de defensa frente a microorganismos extracelulares y sus toxinas. ⁽³⁴⁾

FIGURA N°01: Mecanismos de defensa del sistema inmunológico.



4.2.3 CARACTERÍSTICA DE LA RESPUESTA INMUNE

- Especificidad:** Un antígeno no estimula a todos los linfocitos, sino sólo aquellos que tienen en la membrana receptores que les permite unirse a él. ⁽³⁵⁾
- Memoria inmunológica:** cuando nos exponemos a un antígeno quedan células de memoria que sirven para que cuando nos volvamos a encontrar con ese antígeno la respuesta sea más rápida, porque evitan el principio del proceso. ⁽³⁵⁾
- Clonalidad:** cuando se activa un linfocito, este prolifera y se diferencia en multitud de células iguales a él formando lo que se denomina clon celular. Así lo que hacemos es amplificar la respuesta inmune. ⁽³⁵⁾
- Regulación:** la respuesta inmune cuenta con unos mecanismos de control que se encargan de regularla y que no sea excesiva ni escasa. Puesto que la respuesta inmune debe ser siempre la necesaria, sin variar ni por exceso ni por defecto. ⁽³⁵⁾

e. Ubicuidad, diversidad y dispersión: existen varias clases de linfocitos: linfocitos T, linfocitos NK, etc., y además estos no se encuentran todos juntos en una sola parte del cuerpo, sino que los encontramos repartidos por todo nuestro organismo. ⁽³⁵⁾

f. Capacidad de amplificación de la respuesta: los linfocitos se intercomunican entre sí mediante citoquinas, linfocinas. ⁽³⁵⁾

g. Expresividad y cooperación: de gran cantidad de elementos celulares y de productos de secreción. ⁽³⁵⁾

TABLA N° 03: Características del sistema inmune innato (inespecífico) y adquirido (específico).

Características del sistema inmune innato (inespecífico) y adquirido (específico)		
	Innata	Adquirida
Especificidad	por estructuras compartidas por grupos de microorganismos	por antígenos de microorganismos y otros antígenos no de microorganismos
Diversidad	Limitada	extensa
Memoria	No	Si
Componentes celulares	fagocitos y células NK	Linfocitos
componentes solubles	complemento, opsoninas, citoquinas	Anticuerpos, citoquinas

4.2.4 MECANISMO DE DEFENSA INESPECÍFICAS

Primera línea de defensa: ⁽³⁵⁾

- La piel es la estructura más externa del cuerpo y la primera barrera que han de franquear los microorganismos invasores. Cuando está intacta es impermeable a la mayoría de los gérmenes.
- Las glándulas sebáceas y el sudor: crean un pH ligeramente ácido muy eficaz contra los hongos.
- La capa córnea superficial de la piel está en un continuo proceso de descamación que contribuye a eliminar colonias bacterianas que haya podido infiltrarse.
- En las mucosas existentes en la boca, nariz, tractos digestivos, respiratorios y urogenitales que son epitelios humedecidos por mucus que colaboran en la eliminación de microorganismos.

- La saliva y las lágrimas contienen lisozima que es un enzima que destruye la pared de algunas bacterias.
- El pH ácido del estómago y la acción enzimática de los jugos gástricos e intestinales destruyen muchos microorganismos
- La flora bacteriana autóctona contribuye a la defensa al impedir el asentamiento de otras bacterias (elaboran sustancias que lo impiden).
- La tos, estornudo, lagrimeo son mecanismos de eliminación de microorganismos.

Segunda línea de defensa: ⁽³⁵⁾

Supuesto que haya sido superada la primera barrera entra en acción la fagocitosis. Entre las células fagocitarias o fagocitos sanguíneos están varios tipos de leucocitos:

- Unos fijos en los tejidos: los Macrófagos que proceden de los monocitos.
- Otros libres y muy numerosos en el torrente sanguíneo los Neutrófilos. Muchos de los neutrófilos mueren en los lugares de inflamación (pus) liberando los enzimas que pueden dañar las células o las proteínas de la matriz extracelular.

Los macrófagos internalizan por fagocitosis los microorganismos o virus formando unas vacuolas llamadas fagosomas. La unión de los fagosomas a los lisosomas produce la hidrólisis o destrucción de los componentes de los microorganismos o virus.

Una vez digerido el antígeno, un fragmento de él, se fija como veremos posteriormente a glucoproteínas MHC de la clase II del fagocito para de ésta manera presentar los antígenos a otros componentes del sistema inmunitario en la respuesta de inmunidad adaptativa o específica.

Elaboran sustancias mensajeras llamadas citoquinas que aumentan la respuesta inflamatoria e interleucinas que estimulan a las células NK para que produzcan interferón, y factores de crecimiento celular para la reparación de los tejidos dañados. Las células NK o asesinas eliminan las células infectadas.

4.2.5 MECANISMO DE DEFENSA ESPECIFICOS

Existen sustancias, siempre macromoléculas (proteínas, polisacáridos) llamadas antígenos que al introducirse en el organismo producen una respuesta inmunitaria. Existen dos tipos de respuesta inmunitaria:

- La respuesta con anticuerpos humorales (inmunoglobulinas) (Inmunidad humoral). Los anticuerpos circulan por la sangre y se unen específicamente al antígeno extraño que los ha inducido. La unión antígeno-anticuerpo facilita a los fagocitos la ingestión y puede activar a un conjunto de proteínas sanguíneas llamado complemento que ayudan a destruir el antígeno. ⁽³⁴⁾
- Respuestas inmunitarias mediadas por células (Inmunidad celular) Implica la formación de células especializadas que reaccionan con los antígenos extraños situados sobre la superficie de las células del huésped, bien sea destruyendo el antígeno o induciendo a otras células a destruirlo. ⁽³⁴⁾

4.2.6 ORGANOS DEL SISTEMA INMUNE

Estirpes hematopoyéticas

La médula ósea durante toda su vida es capaz de producir una gran variedad de células sanguíneas mediante un proceso denominado hematopoyesis entre las que podemos encontrar a los leucocitos. Éstos a su vez los podemos dividir en dos tipos de estirpes celulares distintas: la estirpe mieloide y la estirpe linfoide. ⁽³⁵⁾

- La **estirpe mieloide** es capaz de generar distintos tipos de células dependiendo de las moléculas que segregan las células de su entorno. Entre otras, esta célula progenitora es capaz de diferenciarse en neutrófilos, basófilos, monocito. ⁽³⁵⁾
- La **estirpe linfoide**, por su parte dará lugar a los linfocitos T y a los linfocitos B, es decir será la progenitora de las células responsables de la respuesta inmune específica.

La mayoría de los linfocitos que se forman acabarán en el tejido linfático pero antes se tendrán que diferenciar más: los que posteriormente serán linfocitos T irán al timo y allí serán pre-procesados, los linfocitos B serán pre-procesados en el hígado durante la vida fetal y posteriormente en la médula. ⁽³⁵⁾

Órganos Linfoides ⁽³⁵⁾

Estos órganos linfoides los podemos dividir en dos grupos: órganos linfoides primarios o centrales y órganos linfoides secundarios o periféricos.

a. **Órganos linfáticos primarios:** los linfocitos empiezan a madurar (adquieren los receptores específicos para cada antígeno).

- **Médula ósea:** es un tejido que se encuentra en el interior de los grandes huesos como vértebras, cráneo, costillas. Se puede dividir en dos: médula ósea roja que es la que posee la función hematopoyética en la que encontramos células madre o "stem" a partir de las cuales se generan las otras, y médula ósea amarilla que es tejido adiposo.
- **Timo:** es uno de los controles centrales del sistema inmunitario y tiene una influencia importante en el desarrollo y maduración del sistema linfático y en la respuesta inmunitaria del organismo. Los linfocitos procedentes de la médula ósea llegan al timo para convertirse en células T que posteriormente irán a la sangre donde se dividirán para producir más células T al ser estimuladas por antígenos.

b. **Órganos linfáticos secundarios:** Estos órganos están en las membranas epiteliales y en lugares en los cuales los antígenos pueden acceder a la linfa o a la sangre. Los linfocitos por estos dos líquidos van de un órgano a otro aumentando la posibilidad de que el linfocito adecuado se encuentre con su antígeno específico. ⁽³⁵⁾

- **Ganglios linfáticos:** son unas estructuras nodulares que se encuentran agrupadas en las axilas, ingle, abdomen. Presentan conductos linfáticos aferentes que llegan al ganglio llevando la linfa hasta el seno marginal siguiendo por los senos corticales hasta llegar a la corteza, zona de predominio de linfocitos B, para después pasar por los senos modulares y finalmente acabar saliendo por los conductos eferentes. Dentro del ganglio aunque todos los linfocitos siguen el mismo recorrido existe una diferencia ya que los linfocitos B se irán a la zona externa de la corteza mientras que los linfocitos T se quedarán en la interna.
- **Bazo:** Sirve como almacenamiento de sangre y de plaquetas, para combatir infecciones bacterianas mediante fagocitosis y produce anticuerpos. Tiene dos partes: la pulpa blanca y la pulpa roja. La pulpa roja es la continuación de los vasos y una de sus funciones es retener los glóbulos rojos envejecidos. Por su parte la

pulpa blanca posee folículos linfoides donde presenta los antígenos. Los linfocitos llegan a este órgano por los capilares arteriales y salen por venas y vasos linfáticos eferentes.

- **Tejido linfoide asociado a las mucosas**: está formado por tejido linfoide sin capsular situado en distintas áreas submucosas como la del tracto respiratorio, el tracto gastrointestinal y el genitourinario. Se va a dedicar a producir inmunoglobulinas A que van a tapizar y así formar los mecanismos de defensa primarios inmunitarios.
- **Médula ósea**: A pesar de que se encuentra entre los órganos linfoides primarios también pertenece a este grupo ya que se dedica a la producción de anticuerpos en la respuesta secundaria humoral (en ella se producen las células madre linfopoyéticas que originarán los futuros macrófagos y linfocitos T y B).

4.2.7 CELULAS DEL SISTEMA INMUNE

a. **Linfocitos T**: Son los responsables de la respuesta inmune producida por células. Estos linfocitos se originan en la médula al igual que los demás, pero posteriormente emigran al timo. Existen tres tipos: linfocitos T citotóxicos, colaboradores y supresores. Los T citotóxicos, en el timo, adquieren una gran especificidad contra un determinado antígeno. En el momento que un linfocito T citotóxico detecta en el cuerpo antígenos de su especialidad se activa y empieza a multiplicarse y a formar clones y todos estos linfocitos estarán en continuo movimiento por los líquidos corporales. Para que un linfocito T reconozca un antígeno (de tipo proteico) este debe ser presentado anteriormente por el complejo mayor de histocompatibilidad. Por su parte los T colaboradores y supresores participan de forma directa en la inmunidad regulando la respuesta de las células B y de las T citotóxicas. Los marcadores (CD) que le pertenecen a este tipo de linfocitos suelen ser los de números inferiores, siendo el CD4 (Th o cooperadores) y el CD8 (Tc o citolíticos) los específicos de estos linfocitos. ⁽³⁵⁾

b. **Linfocitos B**: Son los encargados de segregar anticuerpos para que se unan a antígenos de una manera específica. El desarrollo de las células B se lleva a cabo a partir de unas células madre que se transforman en células B inactivas y emigran a los órganos linfoides secundarios donde se unen a anticuerpos y se activan. Los linfocitos B pueden reconocer

antígenos intactos y sin necesidad de ser presentados por el complejo mayor de histocompatibilidad. A partir de aquí existen dos caminos. Parte de los linfocitos B se convertirán en células memoria que se almacenarán y otra parte se transformará en células plasmáticas que se encargaran de segregar inmunoglobulinas. Los marcadores (CD) que le pertenecen a este tipo de linfocitos suelen ser los de números superiores, siendo el CD20 el marcador específico de estos linfocitos. ⁽³⁵⁾

c. Macrófagos: Proviene de los monocitos (células circulantes). Estos se originan en la médula ósea gracias al factor de crecimiento GM-CSF. Tienen doble función: La primera consiste en fagocitar y digerir todos los cuerpos extraños que se introducen en el organismo liberando los restos antigénicos en su citosol y la segunda es la de presentación de antígenos: después de haber fagocitado los microorganismos extraños, procesan y presentan estos antígenos en su superficie con el fin de que sean reconocidos por los linfocitos T colaboradores para que estos a su vez activen los linfocitos B. Además los macrófagos secretan una sustancia: interleucina I, la cual favorece la reproducción de los linfocitos específicos. Los macrófagos reciben distintos nombres dependiendo del lugar donde se encuentren, algún ejemplo serían: microglía (en el cerebro), osteoclasto (en el tejido óseo). ⁽³⁵⁾

d. Células presentadoras de antígenos: Las células dendríticas se producen en la médula ósea pero emigran hasta alcanzar casi todos los tejidos concentrándose en las zonas donde hay mayor posibilidad de existir antígenos para poder fagocitarlos y posteriormente poder presentar los restos de estos en la superficie de las membranas unidos al complejo mayor de histocompatibilidad. ⁽³⁵⁾

e. NK (citólíticos naturales): Estas células forman la primera línea de defensa mediada por células. Se encargan de destruir los tumores mediante mecanismos inespecíficos sin necesidad de haberse expuesto anteriormente frente a los antígenos tumorales; realizan citólisis sobre las membranas plasmáticas de algunas células. Su acción es apoyada posteriormente por los linfocitos T citotóxicos. Estas células tienen dos tipos de receptores en la membrana: receptor activador, que reconoce moléculas en la superficie de las células diana, y receptor inhibitor, llamado KIR (killer inhibitor receptor) que inhibe la citólisis Nk a través del reconocimiento de moléculas del CPH de clase I propia. Sus marcadores (CD) específicos son CD56 y CD57. ⁽³⁵⁾

4.2.8 COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

Los antígenos de histocompatibilidad son proteínas codificadas por un grupo de genes denominado complejo principal de histocompatibilidad (MHC) que está en el cromosoma 6. Estos antígenos son los más importantes a la hora de provocar rechazo de los injertos puesto que seis de ellos están en las membranas celulares tisulares de todas las personas pero existen 150 HLA diferentes para elegir, lo que hace prácticamente imposible que dos personas tengan los mismos seis HLA. A la hora de realizar un trasplante cualquiera de estos seis antígenos puede provocar rechazo, por lo tanto cuanto mayor sea el número de antígenos que coincidan entre estas dos personas menor posibilidad de rechazo suele existir. Esta es la razón por la que estos procedimientos suelen hacerse entre personas de la misma familia donde la coincidencia es mayor y por lo tanto el riesgo de rechazo menor. ⁽³⁵⁾

La función fisiológica fundamental de estos antígenos de histocompatibilidad es captar los péptidos de las proteínas extrañas para así poder presentarlos a las células. ⁽³⁵⁾

4.2.9 MEMORIA INMUNOLÓGICA

Una de las características del sistema inmunitario es su capacidad para recordar (memoria inmunológica). Esta es la razón por la que se desarrolla una inmunidad para toda la vida frente a algunas enfermedades víricas o bacterianas después de una exposición inicial al mismo. ⁽³⁶⁾

Si a un animal se le inyecta un antígeno A, su respuesta inmunológica ya sea humoral o celular aparece con un cierto retraso (varios días), aumentando la respuesta de manera rápida o exponencial, para luego mantenerse de forma gradual. Esta respuesta del organismo frente al antígeno se llama respuesta inmunitaria primaria. Si se deja pasar un tiempo y de nuevo se le inyecta el antígeno A y otro nuevo B para comparar la respuesta. Se produce para el A una respuesta rápida en el tiempo, de mayor intensidad y de mayor duración que la primera, se llama respuesta secundaria. El antígeno B da una respuesta menor. ⁽³⁶⁾

En un organismo maduro hay linfocitos T y B que pueden estar en tres fases de diferenciación:

- Células vírgenes
- Células efectoras
- Células de memoria

Cuando las células vírgenes se encuentran con el antígeno por primera vez, al cabo de unos días aparecen en circulación anticuerpos cuya producción va en aumento exponencial hasta alcanzar una fase estacionaria en la que empieza a declinar el número de anticuerpos. Las células vírgenes se han transformado parte en células efectoras y otra parte en células de memoria. Las células de memoria se transforman rápidamente en células efectoras cuando hay un segundo contacto con el mismo antígeno de forma que la respuesta en este segundo contacto es más rápida, más intensa y de mayor duración. Las células de memoria recirculan y pueden tardar años en desaparecer.⁽³⁶⁾

4.2.10 ALTERACIONES DEL SISTEMA INMUNE

a. INMUNODEFICIENCIAS

Las inmunodeficiencias ocurren cuando uno o más de los componentes del sistema inmunitario están inactivos. La habilidad del sistema inmunitario de responder a los patógenos se ve disminuida en los jóvenes y en los adultos mayores. En países desarrollados, la obesidad, el alcoholismo y el abuso de drogas ilegales son causas comunes de una respuesta inmune disminuida. Sin embargo, la malnutrición es la causa más común de la inmunodeficiencia en países en vías de desarrollo.

Las inmunodeficiencias también pueden ser heredadas o adquiridas. La enfermedad granulomatosa crónica, en la cual los fagocitos tienen problemas para destruir patógenos, es un ejemplo de una herencia, o inmunodeficiencia congénita. El SIDA y algunos tipos de cáncer causan inmunodeficiencia adquirida.⁽³⁷⁾

b. AUTOINMUNIDAD

Las respuestas inmunes exagerada abarcan el otro extremo de la disfunción inmunitaria, particularmente el desorden autoinmune. Aquí el sistema inmunitario falla en distinguir adecuadamente lo propio de lo extraño y ataca a partes del propio organismo. En circunstancias normales, muchas células T y anticuerpos reaccionan con péptidos del propio organismo. Existen, sin embargo, células especializadas (localizadas en el timo y en la médula ósea) que participan en la eliminación de linfocitos jóvenes que reaccionan contra antígenos propios, para prevenir así la autoinmunidad.⁽³⁸⁾

c. HIPERSENSIBILIDAD

La hipersensibilidad es una inmunorespuesta que daña los tejidos propios del cuerpo. Está dividida en cuatro clases (Tipo I-IV) basándose en los mecanismos involucrados y el tiempo de desarrollo de la reacción hipersensibilidad. El tipo I de hipersensibilidad es una reacción inmediata o anafiláctica relaciona con alergias. Los síntomas van desde un malestar suave hasta la muerte. El tipo II de hipersensibilidad se produce cuando los anticuerpos se ligan a antígenos localizados sobre las células propias del paciente, marcándose para su destrucción. También recibe el nombre de hipersensibilidad dependiente de anticuerpos o citotóxica.⁽³⁹⁾

Los inmunocomplejos (agregados de antígenos, proteínas del complemento y anticuerpo IgG e IgM) depositados en varios tejidos desencadenan la hipersensibilidad del tipo II. La hipersensibilidad de tipo IV (también conocida como hipersensibilidad de tipo retardado) generalmente tarda entre dos y tres días en desarrollarse. Las reacciones de tipo IV están implicadas en muchas enfermedades autoinmunes e infecciosas, pero también incluyen dermatitis de contacto.⁽³⁹⁾

4.3 ESTIMULANTES

Los inmunoestimulantes se han definido como sustancias que potencian el sistema inmunitario y aumentan la resistencia frente a las enfermedades infecciosas, son compuestos químicos, los cuales existen como elementos estructurales principales de la bacterias, hongos miceliales y levaduras, que activan los leucocitos y por tanto confieren al animal mayor resistencia a las enfermedades causadas por virus, bacterias, hongos y parásitos. Además se define como compuestos químicos (sintéticos o naturales), que actúan sobre los mecanismos de respuesta inmune del hospedero para el control de patógenos.⁽⁴⁰⁾

Los **inmunoestimuladores específicos** son aquellos que proporcionan especificidad antigénica en la respuesta inmune, como las vacunas o cualquier antígeno.

Los **inmunoestimuladores no específicos** son aquellos que actúan independientemente de la especificidad antigénica para aumentar la respuesta inmune de otro antígeno o estimular componentes del sistema inmunitario sin especificidad antigénica, como los adyuvantes y los inmunoestimuladores no específicos. Muchas sustancias endógenas son inmunoestimuladores no específicos. Por ejemplo, las hormonas sexuales femeninas son conocidas por estimular respuestas inmunes tanto adaptativas como innatas. Algunas

enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso atacan de manera preferente a las mujeres, y su comienzo a menudo coincide con la pubertad. También aparecen otras hormonas para regular el sistema inmunitario, más notablemente la prolactina, la hormona del crecimiento y la vitamina D.⁽⁴¹⁾

Los inmunoestimulantes no son vacunas ni antibióticos y, según aclaran los especialistas, no reemplazan ni pueden reemplazar la acción de ninguno de éstos. Tampoco fueron pensados para reemplazar ningún otro tratamiento actual para enfermedades respiratorias. Su objetivo es hacer que el organismo esté mejor preparado para enfrentar los ataques, complicaciones y exacerbaciones que suele sufrir la persona afectada por un enfermedad respiratoria desde el resfrío o la gripe hasta el asma o el EPOC– cuando sus defensas están bajas. Un ejemplo es el del asma severa: los tratamientos de mantenimiento con corticoides inhalatorios, cuando se utilizan, logran mantener controlados los síntomas en más del 60% de los pacientes; pero en más del 30% restante, no. Ese porcentaje restante sería uno de los posibles beneficiados con estos nuevos medicamentos, según aseguró en la presentación el doctor Carlos Baena-Cagnani, médico cordobés que presidió la Asociación Mundial de Alergia, y que presidirá el próximo Congreso Mundial de Alergia, que se realizará en diciembre de este año en Buenos Aires. Pero si bien, remarcó, “no es ni reemplaza a ninguna vacuna”, la nueva medicación ofrecería también algún grado de protección contra infecciones de las vías respiratorias altas y bajas, de origen viral y bacteriano.⁽⁴²⁾

4.4 ACIDO ASCORBICO (VITAMINA C)

La vitamina C es una vitamina esencial para los humanos y otros primates, conejillos de indias, murciélagos, aves paserinas y la mayoría de los peces e invertebrados; otros animales la sintetizan como intermediario en la vía del ácido urónico del metabolismo de la glucosa. En las especies en las cuales es una vitamina, se observa un bloqueo en esa vía por la ausencia de la gulonolactona oxidasa, tanto el ácido ascórbico como el ácido dehidroascórbico cuentan con actividad vitamínica.⁽³²⁾

El ácido ascórbico cumple funciones específicas en las hidroxilasa que contienen cobre y las que contienen hierro vinculadas con el alfa-cetoglutarato. También aumenta la actividad de varias enzimas más *in vitro*, aunque ésta es una acción reductora inespecífica.

Además, ejerce varios efectos no enzimáticos por su actividad como agentes reductor y eliminador de radicales del oxígeno. ⁽³²⁾

4.4.1 DEFICIENCIA DE VITAMINA C: ESCORBUTO

Los signos de deficiencia de vitamina C en el escorbuto incluyen cambios cutáneos, fragilidad de los capilares sanguíneos, deterioro de las encías, pérdida de dientes y fractura ósea, muchos de los cuales pueden atribuirse a la síntesis deficiente de colágeno.

Con una ingesta superior aproximadamente 100mg por 7 días, se satura la capacidad del cuerpo para metabolizar la vitamina C y cualquier cantidad adicional que se ingiera se excreta en la orina. Sin embargo, además de sus otras funciones, la vitamina C intensifica la absorción del hierro y esto depende de la presencia de vitamina en el intestino. Es por ello que el aumento en la ingesta puede ser benéfico. La evidencia en cuanto a que las dosis altas de vitaminas C prevengan el resfriado común o disminuyan la duración de sus síntomas no es convincente. ⁽³²⁾

El Natural Food Hub (2000) señala que la vitamina C es un importante antioxidante que ayuda, entre otros, a prevenir el cáncer, enfermedades del corazón y estrés; asimismo, es un importante energético y es fundamental para la elaboración de colágeno, proteína que ayuda a formar y mantener saludables el cartílago, la piel y el aparato circulatorio. Por otro lado, contribuye al mantenimiento de un sistema inmunológico saludable y facilita la absorción de nutrientes (incluyendo el hierro) en el sistema digestivo. ⁽²⁵⁾

4.4.2 INGESTA DIARIA

La ingesta diaria de ácido ascórbico debe igualar la cantidad excretada o destruida por oxidación. Los adultos humanos sanos, pierden de un 3 a un 4% de sus depósitos corporales diariamente. Para mantener un depósito corporal de 1500mg o más en el hombre adulto, sería necesario absorber alrededor de 60 mg/día, que se considera la dosis profiláctica, entendiéndose por esta, la cantidad que, administrada diariamente, evita la pérdida de peso en animales de experimentación y detiene el desarrollo del escorbuto. ⁽⁴³⁾

En circunstancias especiales pareciera que se requiere más ácido ascórbico para lograr concentraciones plasmáticas normales. Las concentraciones de ascórbico en el plasma bajan por el consumo de cigarrillos y anticonceptivos, pero la importancia de estos

cambios es poco clara. En ciertas enfermedades, en particular en las infecciosas, los requerimientos pueden aumentar, al igual que después de las cirugías. ⁽⁴³⁾

La Oficina de Alimentos y Nutrición del Consejo Nacional de Investigación, recomienda una ingesta de 60 mg al día para adultos y 100 mg durante el embarazo y amamantamiento. La escuela holandesa da cifras más altas, hasta de 79 mg por día; calculan las necesidades con una medida de 0,83-0,84 mg por kg de peso. Los lactantes y niños pequeños necesitan de 30 a 80 mg al día según la edad ⁽⁴⁴⁾

V. DEFINICIONES OPERACIONALES

5.1 VARIABLES

Variable independiente:

- Extracto acuoso de *Myrciaria dubia* "Camu camu

Variable dependiente:

- Actividad inmunoestimulante

5.2 INDICADORES

Indicador de la Variable Independiente

- Volumen de administración oral: V1: 5 ml (5%) y V2: 5 ml (10%)

Indicadores de la Variable Dependiente

- Porcentaje de activación de la respuesta inmune.
- Recuento linfocitario diferencial (%)

5.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES INDEPENDIENTE

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Extracto acuoso de <i>Myrciaria dubia</i> "Camu camu.	Producto de la extracción de las frutos maduros (pulpa) de <i>Myrciaria dubia</i> , con características propias de la especie vegetal.	Recolección y selección de frutos maduros (pulpa), los cuales serán licuados y filtrados, para luego ser administrados en los grupos experimentales a los volúmenes seleccionados.	Volumen: - 5 ml 5% (p/v) - 5 ml 10%(p/v)	Con Actividad Sin Actividad	Racional Tipo : Cuantitativo

5.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES DEPENDIENTE

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA
Actividad inmunoestimulante	Acción de inducir la activación de la respuesta inmune tras la administración del extracto acuoso de <i>Myrciaria dubia</i> .	Evaluación del extracto acuoso (pulpa) de <i>Myrciaria dubia</i> , mediante el porcentaje de activación de la respuesta inmune y el recuento linfocitario diferencial.	<p>Porcentaje de activación de la respuesta inmune:</p> $\%ARS = \frac{C - T}{C} \times 100$ <p>Recuento linfocitario diferencial (%)</p>	<p>Racional. Tipo: Cuantitativo</p> <p>Racional. Tipo: Cuantitativo</p>

VI. HIPÓTESIS

El fruto maduro de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh "Camu camu", presenta actividad inmunoestimulante el fruto de en ratas albinas cepa Holtzmann, a los volúmenes ensayados, Iquitos 2015.

CAPITULO III

VII. METODOLOGÍA

7.1 METODOLOGIA DE INVESTIGACION

7.1.1 Tipo de estudio

Se empleó un *Diseño experimental, prospectivo y longitudinal*.

- **Experimental:** Se realizó comparaciones de la variable dependiente entre los grupos experimentales y de control.
- **Prospectivo:** En el registro de la información se tomó en cuenta los hechos a partir de la fecha de estudio.
- **Longitudinal:** Se estudió las variables a lo largo del tiempo durante el periodo de investigación.

7.1.2 Diseño de investigación

El ensayo pre-clínico se realizó con ratas albinas *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann machos, con peso corporal de 200 ± 30 gr, a los cuales se administró extracto acuoso de frutos de *Myrciaria dubia* a volúmenes de 5 ml 5%(p/v) y 5 ml 10% (p/v) durante 5 días, de igual manera se realizará con el grupo control positivo Isoprinosine 14.3mg y control negativo con agua destilada 5 ml.

TABLA N° 04: Tabla de sustancias administradas por grupos experimentales

Grupos experimentales	Volúmenes/dosis Ensayadas	N° de animales	Vía de administración
Extracto acuoso de <i>Myrciaria dubia</i>	5 ml 5%(p/v)	10	Oral
Extracto acuoso de <i>Myrciaria dubia</i>	5 ml 10%(p/v)	10	Oral
Control Positivo(+) Isoprinosine	14.30 mg	10	Oral
Control Negativo(-) Agua destilada	5 ml	10	Oral

7.1.3 Área de estudio

Laboratorio de Toxicología y Química Legal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNAP, en el año 2015, ubicada en la ciudad Universitaria del distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas y Departamento de Loreto.

7.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

7.2.1 Población vegetal

- *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh "Camu camu"

Esta especie se recolectó en las zonas aledañas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNAP, ubicado en el distrito de San Juan, provincia de Maynas, Departamento de Loreto, a orillas del Río Nanay en la Selva Baja, a una altura de 116 msnm, Latitud Sur de 03° 45' 18'' y Longitud Oeste de 73° 14' 00'' aproximadamente, en una zona de vida considerada Bosque Tropical Húmedo, de terreno arenoso, ligeramente ácido y con buen contenido de materia orgánica; con una temperatura media anual de 28° C y una precipitación pluvial de 2,727 mm al año. ⁽⁵⁰⁾

7.2.2 Muestra Vegetal

- Frutos maduros (pulpa) de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh "Camu camu", 2 kg.

a. Criterios de inclusión vegetal

- Frutos maduros enteros y sanos.
- Frutos que no evidencien contaminación e infección.

b. Criterios de exclusión vegetal

- Frutos inmaduros y deteriorados.
- Frutos que evidencien contaminación e infección.

7.2.3 Población animal

- Estuvo constituida por ratas albinas cepa Holtzmann machos, con peso promedio de 200 ± 30 gr. de peso corporal procedentes del Centro Nacional de Producción de Biológicos del Instituto Nacional de Salud – Ministerio de Salud – Lima-Perú.

7.2.4 Muestra animal

- Se utilizó 40 ratas albinas en total, teniendo en consideración que en toda la investigación. La selección de animales fue al azar teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión animal.

a. Criterios de inclusión animal

- Ratas albinas de sexo machos y con peso corporal de 200 ± 30 gr sanos.
- Ratas albinas sanas con certificado de salud emitido por el Centro Nacional de Producción de Biológicos del Instituto Nacional de Salud – Ministerio de Salud – Lima-Perú.

b. Criterios de exclusión animal

- Ratas con incapacidad física y motora.
- Ratas que hayan sido utilizados en evaluaciones anteriores.

Todos los animales fueron mantenidos en condiciones iguales de luz (12/12hrs) y temperatura, con comida balanceada y acceso libre al agua.

7.3 MATERIALES, EQUIPOS Y DROGAS

7.3.1 Material vegetal:

- Frutos maduros (pulpa) de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh "Camu camu"

7.3.2 Material biológico

- Ratas albinas *Rattus norvegicus*, cepa Holtzman, sexo macho.

7.3.3 Materiales de Laboratorio

- Agua destilada
- Algodón hidrófilo
- Cánula intragástrica N° 16
- Comederos y bebederos
- Gradillas porta tubos
- Hojas de Bisturí N°21
- Jeringas descartables de 1mL.
- Láminas porta objetos.
- Micropipetas de 10 μ L. y 1000 μ L.
- Papel toalla
- Alcohol puro 96°
- Balanza simple
- Capilares heparinizados de 75 μ L.
- Cronómetro
- Guantes quirúrgicos
- Jaulas limpias
- Jeringas descartables de 3mL.
- Lápiz marcador de vidrio
- Papel de despacho
- Vaso de precipitado 25ml

- Tips para micropipetas de 10 μ L. y 1000 μ L.
- Tubos de ensayo de 100mm. x 75mm.

7.3.4 Equipos

- Balanza Analítica. METTLER TOLEDO AG 204
- Balanza digital - Ohaus® Compact Portable Balance
- Espectrofotómetro. METROLAB 1600 DR
- Microscopio binocular. OLYMPUS
- Refrigerador. FRÍO LUX
- Cámara fotográfica (Digital). Samsung
- Centrífuga microhematocrito KERT LAB

7.3.5 Drogas y Sustancias Químicas

- Solución de Azul de metileno al 10%
- Tinción Wrigth
- Isoprinosine 14.30 mg

7.3.6 Instrumentos

- Fichas de recolección de datos para la evaluación y de recolección de los resultados. (Ficha N° 01 – Ficha N° 02)

7.4 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS:

7.4.1 COLECTA Y PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES.

Identificación de especies vegetales:

- Se recolectó los frutos de la especie vegetal en estudio considerando el estado vegetativo y la temporada de recolección.
- Se identificó taxonómicamente en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonia peruana (UNAP).

Preparación de los extractos acuosos:

- Se seleccionó frutos maduros del vegetal en buen estado de conservación.
- Se realizó el lavado de las partes vegetales a chorro de agua corriente para eliminar remanente con una solución de hipoclorito de sodio al 2%.

- Se extrajo la pulpa de los frutos maduros de camu-camu, para ser secados a 60 °C por 24 horas.
- Se preparó un extracto acuoso al 10% (p/v) por 24 horas a 60 °C.
- A las 24 horas el extracto fue decantado, filtrado, cuantificado y posterior guardado a -10 °C, con este extracto se preparó el otro extracto acuoso final al 5% (p/v).
- El extracto acuoso, fue rotulado y envasado herméticamente para garantizar su conservación y estabilidad.

7.4.2 ACONDICIONAMIENTO E IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

Etapa de Cuarentena

- Fueron sometidos a etapa de acondicionamiento y aclimatación (cuarentena) durante 14 días, los cuales fueron acondicionados en las instalaciones del Laboratorio de Toxicología y Química Legal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNAP, a una temperatura de 25°C, con una humedad promedio de 30 – 70%, y un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas, manteniéndolos con libre acceso al agua y alimentos, con la finalidad de que se adapten a su entorno ambiental y adquirir el peso ideal para su inclusión al ensayo, para luego ser distribuido en 4 grupos con 10 animales cada uno.

Identificación de los animales

- Durante el período de cuarentena estuvo bajo observación permanente.
- Los animales de experimentación fueron marcados con picrato de sodio, sobre determinadas áreas del cuerpo.
- Posteriormente se procedió al pesado en una balanza, dicha marca y peso fueron anotados en las fichas de identificación. (Ficha N°01).

7.4.3 ACTIVIDAD INMUNOESTIMULANTE: ENSAYO DE ESTIMULACIÓN RETÍCULO ENDOTELIAL DE DELAVEAU Y COL:

Toma de muestra basal

- Se sometió a los animales a un ayuno de 12 horas, se sujetó al animal de tal manera que no pueda realizar movimiento.

- Se sujetó la cola y golpeó vigorosamente con las palmas de las manos (a manera de aplauso), para la dilatación de la vena.
- Al pronunciarse la vena caudal; con la ayuda de una hoja de bisturí se realizó un pequeño corte transversal.
- La sangre se recolectó en capilares heparinizados de 75 μ L., y con micropipeta de 10 μ L.
- Los 10 μ L de sangre fueron hemolizados con 5ml de agua destilada para la lectura en el fotospectrómetro.
- Otros 10 μ L de sangre para el frotis sanguíneo para obtener los datos basales de cada animal.

Técnica operatoria

- Se estableció 4 grupos experimentales de 10 animales cada uno: 2 grupos de control y 2 grupos experimentales (sustancia en estudio: Extracto acuoso (pulpa) de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh "Camu camu")
- A continuación se administró el extracto liofilizado y las sustancias de control (positivo y negativo); según grupos experimentales por un período de 5 días por vía oral.
- Transcurridas 24 horas de la última aplicación, se administró 0.5 ml. de solución de azul de metileno al 10 % a través de la vena caudal.
- Se recolectó la sangre en capilares heparinizados de 75 μ L. y con micropipeta de 10 μ L.
- Se tomó 10 μ L. de sangre a la 1era, 3era, 6ta y 24ava horas post-administración de azul de metileno al 10%, para ser hemolizadas con 5mL de agua destilada y realizar el frotis sanguíneo.

a. Lectura del fotospectrómetro

Las muestras de sangre recolectadas hemolizados con 5 ml de agua destilada, fueron leídos en el fotospectrómetro UV-Visible, longitud de onda 650 nm, filtro rojo y determinar la captación de azul de metileno anotando los resultados.

b. Recuento leucocitario diferencial

Las muestras de sangre recolectada se extendieron en láminas portaobjetos, para realizar la tinción con el colorante de Wrigthn por 10 minutos. Se realizó la lectura de 100 células entre linfocitos y

segmentados con el microscopio con objetivo de 40X. Se compararon los resultados obtenidos.

c. Porcentaje de activación de la Respuesta del Sistema Inmunológico

Se calculó porcentaje de activación de la respuesta del sistema inmunológico, mediante la fórmula:

$$\% \text{ ARSI} = \frac{\text{C} - \text{T}}{\text{C}} \times 100$$

Dónde:

C = Control.

T = Tratamiento.

%ARSI = Porcentaje de activación del sistema inmunológico.

7.5 PROTECCIÓN DE LOS DERECHOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

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 periodo 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 siguió 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 a los animales.

Las consideraciones éticas que se tuvo en cuenta:

- Los animales de experimentación fueron expuestos al mínimo dolor necesario para alcanzar los objetivos de la investigación.
- La duración del experimento fue la más corta posible.
- Se utilizó pequeños grupos de animales, lo necesario para demostrar o rechazar la hipótesis de trabajo.

CAPITULO IV

RESULTADOS

TABLA N° 05: Valores de absorbancia de los grupos experimentales sobre la captación de Azul de metileno en Ratas Albinas Ceba Holtzmann, según tiempo (horas) de evaluación.

GRUPOS	1 HORA X ± SD	3 HORAS X ± SD	6 HORAS X ± SD	24 HORAS X ± SD
Control	0.18152 ± 0.02	0.19456 ± 0.02	0.18811 ± 0.02	0.16752 ± 0.16
Control positivo (Isoprinosine 14.30 mg)	0.05822 ± 0.12 *	0.04133 ± 0.21 *	0.04007 ± 0.53 *	0.03478 ± 0.13 *
<i>Myrciaria dubia.</i> 5% (p/v)	0.10318 ± 0.01 *	0.09200 ± 0.03 *	0.08230 ± 0.01 *	0.08012 ± 0.03 *
<i>Myrciaria dubia.</i> 10% (p/v)	0.10190 ± 0.02 *	0.08315 ± 0.01 *	0.06156 ± 0.01 *	0.05625 ± 0.02 *

X ± SD: Promedio y desviación standart.

*: p < 0.05 en relación al grupo control.

En la tabla n° 05 se muestran los promedios y desviación estándar de los valores de absorbancia en todos los grupos experimentales y durante todo el procedimiento experimental con respecto al grupo control.

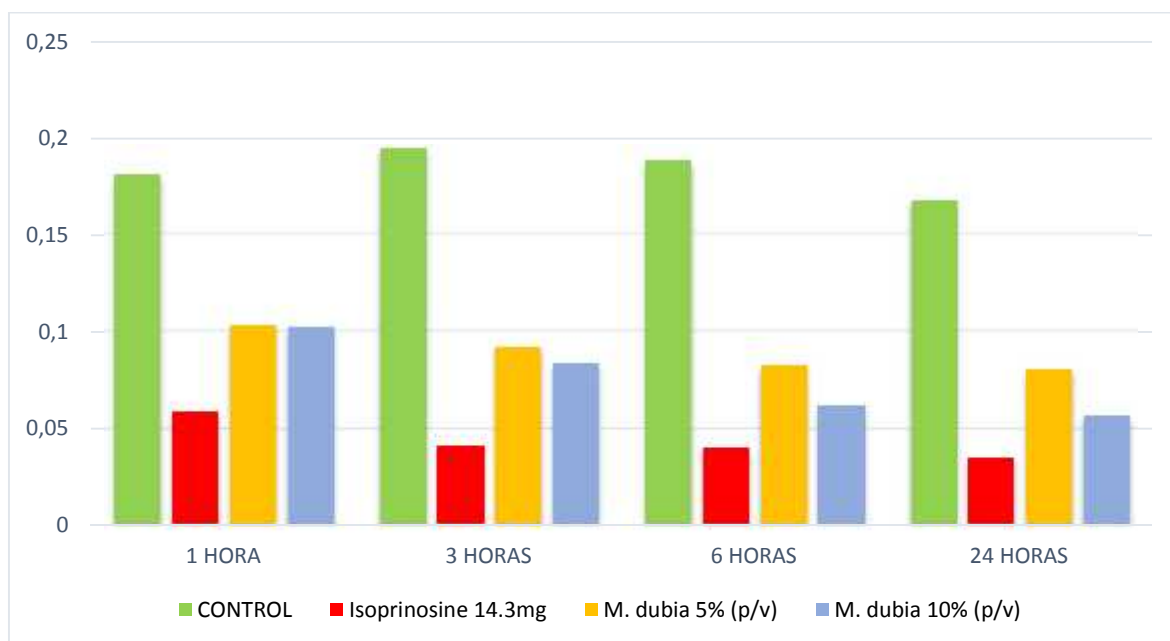
El grupo Control negativo, no presenta disminución de los niveles de absorbancia ni diferencia estadística significativa.

En el grupo Control positivo (Isoprinosine a dosis de 14.30 mg) se evidencia una disminución estadísticamente significativa (p<0.05) frente al grupo control negativo, en los valores de absorbancia a la 1ra hora (**0.05822**), 3^{ra} horas (**0.04133**), 6^{ra} horas (**0.04007**) y 24^{ava} horas (**0.03478**).

En el grupo experimental *M. dubia* a dosis de 5% (p/v) presenta diferencia estadística significativa (p<0.05), en los valores de absorbancia a la 1ra hora (**0.10318**), 3^{ra} horas (**0.09200**), 6^{ta} horas (**0.08230**) y 24^{ava} horas (**0.08012**).

En el grupo experimental *M. dubia* a dosis de 10% (p/v), presenta diferencia estadísticamente significativa (p<0.05), a la 1ra hora (**0.10190**), 3^{ra} horas (**0.08315**), 6^{ta} horas (**0.06156**) y 24^{ava} horas (**0.05625**).

GRAFICO N° 01: Promedios de absorbancia en sangre en los diferentes grupos de experimentación según tiempo (horas) de evaluación.



En el gráfico n°01 se muestra el promedio de absorbancia en sangre de las ratas albinas sobre la captación del azul de metileno en los diferentes grupos de experimentación según el tiempo (horas) de evaluación.

En el grupo Control negativo no se evidenció ninguna disminución de los niveles de absorbancia ni diferencias estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En el grupo Control positivo se evidencia una mayor disminución del nivel de absorbancia a la 24^{va} hora, con un valor de **0.03478**, respecto al grupo control negativo.

En el grupo experimental *M. dubia* a dosis de 5% (p/v) se evidenció una mayor disminución de los niveles de absorbancia a la 6^{ta} horas (**0.08230**) y 24^{ava} horas (**0.08012**).

En el grupo experimental *M. dubia* a dosis de 10% (p/v) se evidencio una mayor disminución de los niveles de absorbancia y diferencias estadísticamente significativa ($p < 0.05$), 6^{ta} horas (**0.06156**) y 24^{ava} horas (**0.05625**).

TABLA N° 06 : Acción de los diferentes grupos sobre las células linfocitarias y segmentadas en sangre de las Ratas Albinas Cepa Holtzmann, según grupo experimental por tiempo (horas) de evaluación.

GRUPOS EXPERIMENTALES	1 HORA		3 HORAS		6 HORAS		24 HORAS	
	LINF	SEGM	LINF	SEGM	LINF	SEGM	LINF	SEGM
Control	33.1 ± 5.9	66.9 ± 5.9	33.0 ± 2.8	67.0 ± 2.8	35.9 ± 4.2	63.8 ± 4.0	44.4 ± 7.8	55.6 ± 7.8
Isoprinosine 14.30 mg	69.7 ± 6.2	30.3 ± 6.2	80.0 ± 6.2	20.0 ± 6.2	75.7 ± 6.4	23.2 ± 7.0	79.0 ± 3.9	21.0 ± 3.9
<i>Myrciaria dubia</i> 5% (p/v)	52.1 ± 5.0	47.9 ± 5.0	63.6 ± 2.3	36.4 ± 2.3	66.9 ± 4.4	33.1 ± 4.4	73.4 ± 4.7	26.6 ± 5.0
<i>Myrciaria dubia</i> 10% (p/v)	60.3 ± 3.7	39.7 ± 9.8	66.1 ± 8.0	33.9 ± 8.0	71.9 ± 8.8	28.1 ± 8.8	75.7 ± 4.5	24.3 ± 4.5

En la tabla n° 06 se muestran los promedios y la desviación estándar de las células linfocitarias y segmentadas encontradas en sangre de Ratas Albinas Cepa Holtzmann, por grupos experimentales según el tiempo (horas) respecto al grupo control.

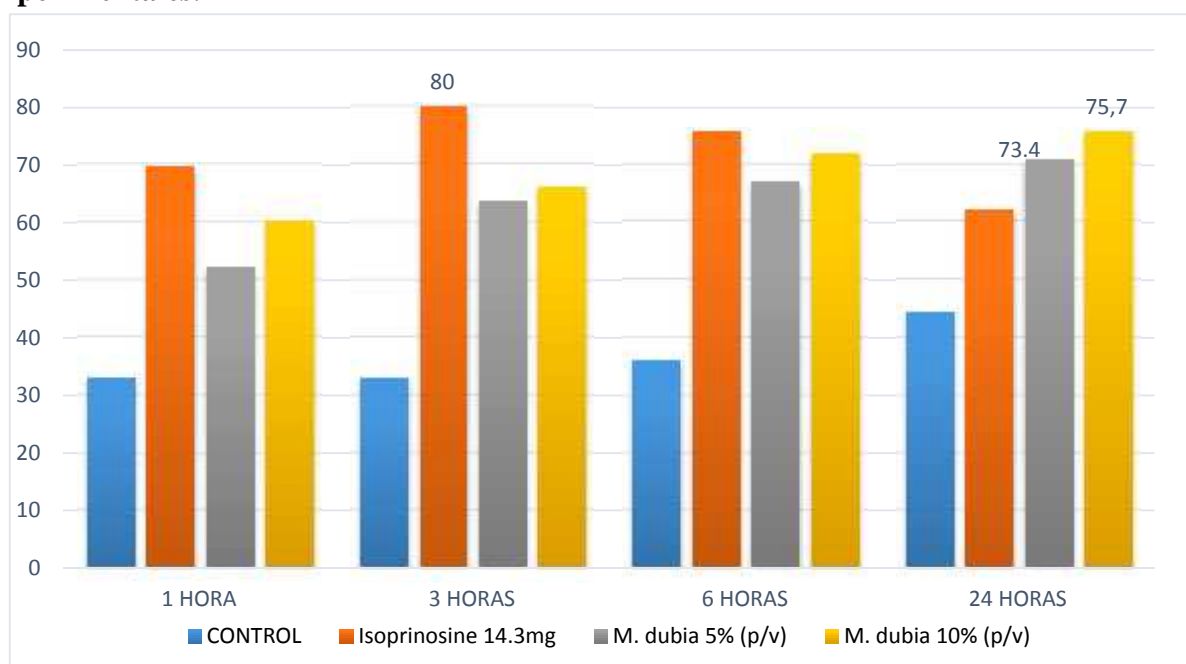
En el grupo Control negativo no presenta diferencias estadísticamente significativas en células linfocitarias ni segmentadas.

En el grupo control positivo (Isoprinosine a dosis de 14.30mg), presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) a la 1^{ra} hora con valores linfocitarios de **69.7** y segmentados de **30.3**; a la 3^{ra} con linfocitos de **80.0** y segmentados de **20.0**; a la 6^{ta} horas con **75.7** de linfocitos y **23.2** de segmentados; y 24^{ava} horas de **79.0** de linfocitos y **21.0** de segmentados respecto al grupo control.

En el Grupo experimental *M. dubia* a dosis de 5% (p/v) presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) de las células linfocitarias sobre las segmentadas (linfocitos/segmentados) con valores a las 3^{ra} hora de **63.6/36.4**, 6^{ta} hora de **66.9/33.1** y 24^{ava} horas de **73.4/26.6**.

En el Grupo experimental *M. dubia* a dosis de 10% (p/v) se evidencian diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) de las células linfocitarias sobre las segmentadas (linfocitos/segmentados) con valores a la 3^{ra} hora de **66.1/33.9**, 6^{ta} hora de **71.9/28.1** y 24^{ava} horas de **75.7/24.3**

GRAFICO N° 02: Promedios de células linfocitarias de acuerdo a los grupos experimentales.



En el gráfico n° 02 se muestra el promedio de células linfocitarias por grupos experimentales a los diferentes tiempos (horas) de evaluación.

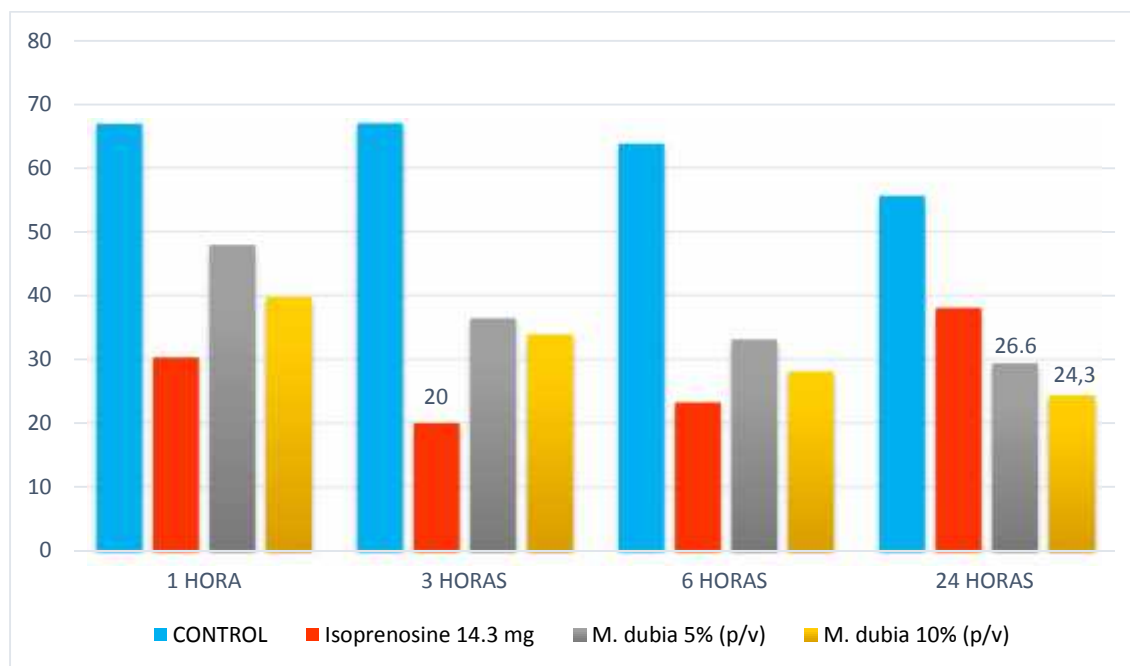
En el grupo Control no se evidenció actividad inmunoestimulante o aumento de actividad linfocitaria.

En el grupo control positivo (Isoprinosine a dosis de 14.30 mg), se encontró mayor actividad inmunoestimulante o aumento de actividad linfocitaria a la 3^{ra} hora de evaluación con un valor de **80.0** con relación al grupo control.

En el Grupo *M. dubia* a dosis 5% (p/v) la mayor actividad inmunoestimulante o aumento de linfocitos se observó a las 24^{ava} horas con **73.4**.

En el Grupo experimental *M. dubia* a dosis de 10% (p/v) la mayor actividad linfocitaria fue de **75.7** perteneciente a la 24^{ava} horas del ensayo.

GRAFICO N° 03: Promedios de células segmentadas de los diferentes grupos experimentales.



En el gráfico n° 03 se muestra el promedio de células segmentadas por grupos experimentales a los diferentes tiempos de evaluación.

En el grupo Control no se evidenció actividad inmunoestimulante ni disminución de las células segmentadas.

En el grupo Control positivo, se constató mayor actividad inmunoestimulante representada por una disminución de células segmentadas, a las 3^{ra} hora de la prueba con un valor de **20.0**.

En el Grupo experimental *M. dubia* a dosis de 5% (p/v) se evidenció una mayor disminución de células segmentadas a las 24^{ava} horas con una cifra de **26.6**.

En el Grupo experimental *M. dubia* a dosis de 10% (p/v) se observó la mayor disminución de células segmentadas a las 24^{ava} horas con **24.3**.

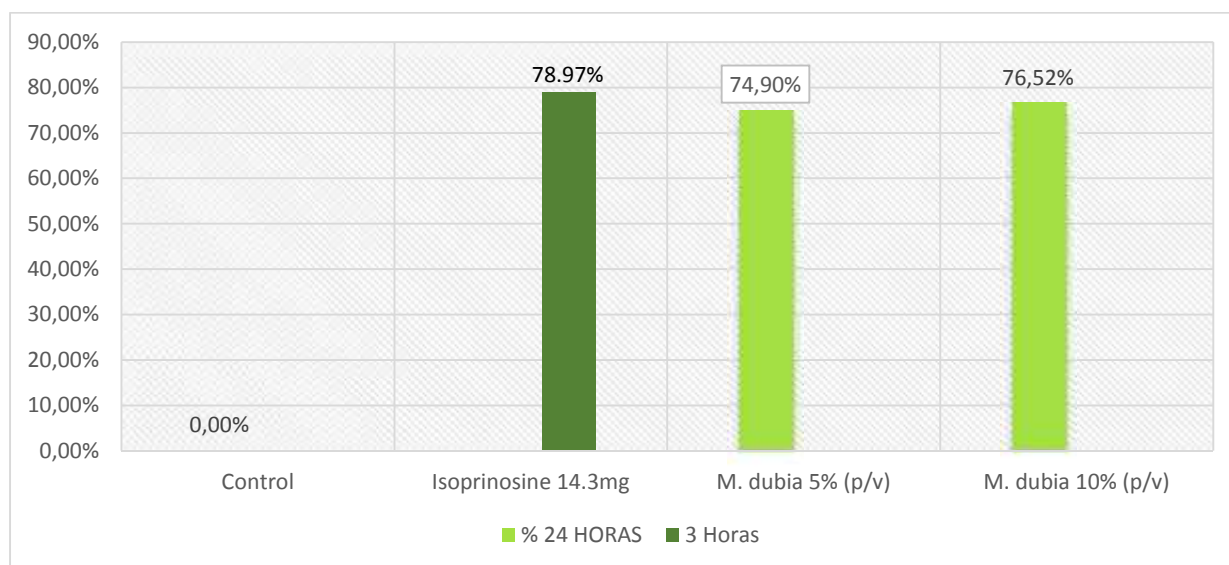
TABLA N°07: Porcentaje de Activación de la Respuesta del Sistema Inmune en ratas albinas cepa Holtzmann, según grupo experimental por tiempo (horas).

GRUPOS	<u>1 HORA</u>		<u>3 HORAS</u>		<u>6 HORAS</u>		<u>24 HORAS</u>	
	ABS	%	ABS	%	ABS	%	ABS	%
Control	0.182	0	0.195	0	0.188	0	0.168	0
Isoprinosine 14.30 mg	0.058	68.13	0.041	78.97	0.040	78.72	0.035	78.71
<i>M. dubia</i> 5% (p/v)	0.103	43.41	0.092	73.48	0.082	56.38	0.080	74.90
<i>M. dubia</i> 10% (p/v)	0.102	43.97	0.083	72.05	0.061	67.55	0.056	76.52

En la tabla n° 07 se muestra la absorbancia y el porcentaje de activación de la respuesta del sistema inmune, en todos los grupos experimentales y en las horas de evaluación.

Se utilizó como control negativo: agua destilada; control positivo: Isoprinosine a dosis de 14.30 mg.; y los grupos experimentales: extractos de *M. dubia* a dosis de 5% (p/v) y 10% (p/v) se determinaron los porcentajes de activación del sistema inmunitario a 1, 3, 6 y 24 horas post administración de azul de metileno al 10%.

GRAFICO N° 04: Porcentaje de Activación de la Respuesta del sistema Inmune de los diferentes grupos experimentales.



En el gráfico n°04 se observa el porcentaje de la respuesta inmunitaria, por grupo experimental según tiempo (horas) de evaluación.

El grupo control negativo (agua destilada) no evidencia activación de sistema inmune. En el grupo control positivo: Isopinosine a dosis de 14.30mg se evidencia un porcentaje mayor de activación de la respuesta inmune a la 3^{ra} hora con un valor de **78.97%** y después a las siguientes horas se evidencia una disminución del porcentaje de activación linfocitaria.

En el grupo experimental *M. dubia* a dosis de 5% (p/v) el porcentaje de activación de respuesta inmune se evidencio por el aumentando del porcentaje desde la 1^{era} hora, 3^{ra} hora, 6^{ta} hora hasta las 24^{ava} horas con **74.90%** y en el grupo experimental *M. dubia* a dosis de 10% (p/v) la mayor actividad de respuesta del sistema inmune fue también a las 24^{ava} horas con una cifra de **76.52%**

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se evaluó el extracto acuoso de frutos de *M. dubia* “camu camu” al 10% y 5%, sobre la respuesta del sistema inmune en Ratas Albinas Cepa Holtzmann; al comparar su accionar, con el medicamento de comprobadas propiedades inmunoestimulantes denominado metisoprinol (Isoprenosine) a dosis de 14,3 mg/kg. el cual es considerado dentro del grupo control positivo; además de un grupo control negativo (agua destilada); para el estudio se han utilizado 40 ratas albinas cepa holtzmman (10 ratas por grupo) con pesos promedios entre 200 y 300g, a quienes se les administró por vía oral durante cinco días, los extractos vegetales y el estándar farmacológico metisoprinol, que es un agente que activa la respuesta del sistema inmune, según Betts (1978) y Grieco (1984) (49)

En el presente estudio, en la Tabla N°05, se observan la variación de los promedios de absorbancia en sangre, durante las distintas mediciones, de los diferentes grupos experimentales. En el grupo control positivo se evidencia una disminución significativa en los valores de absorbancia frente a los obtenidos por el grupo control negativo, según comparación en las respectivas horas. La mayor disminución en los valores de absorbancia se encontró a la 1 hora y a las 24 horas, con un diferencia de 0.1233 y 0.13274 respectivamente frente a los valores del grupo control negativo. La disminución de los valores de absorbancia en el grupo tratado con metisoprinol, se debe a que el sistema inmunológico responde activamente fagocitando las partículas extrañas de la solución de azul de metileno que ingresaron al organismo de las ratas albinas, el cual es medido según su coloración en un equipo espectrofotómetro.

El metisoprinol es un medicamento inmunestimulante y antiviral, cuyo mecanismo de acción es estimular la producción de linfocitos T, aumentar la función de linfocitos T asesinos, incrementar la actividad de los linfocitos B y con ello la producción de inmunoglobulinas; así mismo, intensifica la actividad fagocitaria; es por este último que reduce la concentración de las partículas de la solución de azul de metileno. En el tratamiento con el control positivo (Isoprenosine 14.30 mg/kg) se evidencio un incremento en la activación del sistema inmune, esto puede deberse a que el isoprenosine estimula la producción de células T o linfocitos T, así como el aumento de la función de los linfocitos T asesinos, apoya a la función de las células asesinas naturales (NK) e incremento la actividad de las células B (linfocitos B) y con ello la producción de inmunoglobulinas; intensificando la actividad fagocitaria. De hecho, se produce un fortalecimiento de la respuesta inmune a nivel celular y humoral. (45)

El isoprinosine es un complejo que contiene inosina y paracetamino benzoato de dimetilamino-2-propanol, gracias a su componente de inosina este fármaco estimula los linfocitos T lo que puede ser verificado por un aumento de las respuestas de estas células a los mitógenos. Isoprinosine estimula la síntesis del RNA en linfocitos activados, a través de la activación de la vía “salvaje” de las purinas. ⁽⁴⁵⁾

Respecto a los grupos tratados con los extractos de *Myrciaria dubia*, también disminuyó los valores de absorbancia, el grupo tratado al 5% obtuvo una diferencia de 0.10256 abs, frente al grupo control negativo a las 3 horas; y el grupo tratado al 10% obtuvo 0.12655 abs, a las 6 horas de evaluación. La inmunoestimulación ha sido corroborada al evidenciarse mayor captación de Azul de metileno usada como sustancia cromófora de contraste y determinado mediante espectroscopía UV-Visible a una longitud de onda de 650nm con filtro rojo en muestras de sangre de ratas previamente hemolizadas.

En la Tabla N°06, se muestran la acción de los diferentes grupos sobre las células linfocitarias y segmentadas, que mediante coloración Wrigth, se realizó la comprobación de los elementos blancos de la sangre en ratas, donde el grupo tratado con metisoprinol presentó un 81.0% de incremento de linfocitos, incrementándose en 36.6% respecto al grupo control negativo que obtuvo 44.4%; asimismo *M. dubia* al 5% con 73.4% (incrementándose 29%) y el grupo de *M. dubia* al 10% con 75.7% (incrementándose 31.3%) frente al grupo control negativo, todos los grupos comparados a las 24 horas de evaluación.

Este aumento de linfocitos puede deberse a la administración diaria del extracto acuoso de *Myrciaria dubia* H. B. K Mc Vaugh, que cuenta con un alto contenido de ácido ascórbico con valores entre los 2 000 y los 2 994 mg/ 100gr de pulpa según estudios reportados por **Ferreira, R.**⁽²²⁾, lo cual le confiere una de gran capacidad antioxidante, esta propiedad antioxidante le da actividad inmunoestimulante, como hace mención **Sotero, V., et al.**⁽¹⁷⁾

En la tabla N°07, observamos que los extractos acuosos al 5% y al 10% aumentan el porcentaje de activación de la respuesta inmune en 52.38% y 66.67% respectivamente, en forma similar como lo hace el grupo tratado con metisoprinol a dosis de 14.30mg/kg. el cual obtuvo un porcentaje mayor (79.17%); al administrar el azul de metileno al 10% en la vena caudal de las ratas albinas cepa Holtzman, su sistema inmunológico detecta la

presencia del agente extraño donde actúan de manera específica los linfocitos los cuales engloban o comen al agente extraño, rodeándolos exteriormente con su membrana hasta hacerlos pasar al interior de su citoplasma. Los linfocitos necesitan distinguir al agente extraño de las propias células y tejidos sanos del organismo para funcionar de manera adecuada.

Y siendo los flavonoides, antocianinas y ácido ascórbico, metabolitos presentes en el extracto de *M. dubia*, podrían ser los responsables de la actividad observada sobre el sistema inmune en ratas, por activación de los anticuerpos tipo IgE.

También **Castañeda C. B., et al**⁽²²⁾. Evaluó la capacidad antioxidante de veintinueve extractos de varias plantas medicinales entre ellos el *Myrciaria dubia* “camu camu” por el método de la decoloración del radical 2,2-difenil-1picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados obtenidos al evaluar la capacidad antioxidante a las concentraciones de 1 ug/mL, 50 ug/mL, 100 ug/mL y 200 ug/mL fueron en el camu camu (E. Metanólico del fruto) 98.09% a 50 ug/mL, en comparación con el al ácido ascórbico (Vitamina C) que presentó una actividad antioxidante en promedio de 92.82%.⁽²²⁾

Otros autores como **Muñoz, J., et al**⁽¹³⁾, indican que el camu camu posee actividad antioxidante muy elevada, y que existe una correlación directa entre los valores TEAC y los valores de compuestos fenólicos totales, lo que explica que las frutas de mayor poder antioxidante es el camu-camu, pues contiene mayor cantidad de compuestos fenólicos, recomendándose el consumo de estos frutos promisorios en una alimentación saludable para una mejor calidad de vida.

El presente estudio podría sentar las bases para utilizar esta planta como tratamiento de las personas que padecen enfermedades que tienden a disminuir las defensas, a fin de restaurar el nivel y funcionamiento de su sistema inmune, pudiendo ser una excelente alternativa respecto al tratamiento que actualmente reciben las personas.

CONCLUSION

Los resultados obtenidos en el desarrollo de la presente investigación se abordan de acuerdo a los objetivos que nos permiten concluir lo siguiente:

- El ensayo de Estimulación del Retículo Endotelial de Delaveau y Col en animales de experimentación, demostró ser eficiente según las condiciones experimentales de trabajo, ya que logramos que el sistema inmunitario en las ratas albinas se active.
- Se evidencio la actividad inmunoestimulante del fruto maduro de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu", en ratas albinas cepa Holtzmann de los extracto acuoso al 5% y 10% (p/v), logrando obtener la mayor activación linfocitaria del Sistema Inmunitario en un 74.90% y 76.52% respectivamente a las 24 horas con respecto al control negativo.
- Se comparó los resultados obtenidos de los grupos experimentales con el grupo control positivo: Isoprinosine a dosis de 14.30 mg con un porcentaje mayor de activación de la respuesta inmune a la 3^{ra} hora con un valor de 78.92% con respecto al grupo control negativo.
- Se comprobó mediante las lecturas de las absorbancias de la muestras obtenidas, que la sustancia de trabajo presenta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) con respecto al grupo control negativo.
- En el recuento linfocitario se comprobó que existen mayor número de linfocitos en sangre y menor número de células segmentadas inmaduras, que nos demuestran la activación linfocitaria del sistema Inmune frente a una sustancia que debe ser reconocida por el organismo como extraña (solución de azul de metileno), cuya acción debe dar como resultado la eliminación de la sustancia extraña.

RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar estudios más exhaustivos de la capacidad antioxidante de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu".
- ✓ Realizar más estudios de investigación sobre la especie de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu" como inmunoestimulante, ya que se encuentra escasa información científica del este tipo de estudios.
- ✓ Realizar el estudio toxicológico de dosis límite para confirmar a que dosis es toxico la especie botánica.
- ✓ Realizar estudios clínicos en personas con problemas de inmunodeficiencia.
- ✓ Determinar la toxicidad de los principios activos presentes en extracto etanólico de *Myrciaria dubia* **H.B.K. Mc Vaugh** "Camu camu",

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Merk Sharp & Dohme. Manual Merck para el Hogar. Trastornos debidos a inmunodeficiencia. [Sitio wn web], Sec. 16, Cap. 168. España. [Acceso 14 de abril 2010] Disponible en:
http://www.msd.com.co/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_16/seccion_16_168.html
2. (DR. ANDREW WEILL.“Salud y Medicina Natural”-, Editorial Urano. “Sida, Macrobiótica e Inmunología Natural”- MichioKushi, Martha Cotrell, Mark Mead. Editorial Gea.“Los alimentos: Medicina Milagrosa”, Jean Carper, Editorial Norma.“La trama de la vida”, FritjofCapra, Editorial Anagrama.
<http://buenasiembra.com.ar/salud/articulos/sistema-inmunologico-453.html>
3. (JURLLOW, E. Causas de La Inmunodeficiencia Secundaria no SIDA del Adulto [Sitio en web]. Medwave. Marzo 2001 [Acceso 15 de octubre 2010]
<http://www.mednet.cl/link.cgi/Medwave/Atencion/Adultos/inmunologia/1893>
4. Centro de Investigaciones de Energía Solar. Santiago de Cuba, Adyudantes inmunologicos [Internet]2013 Feb 18 [Citado 2015 Abril 13] 1 p disponible en :
http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol18_2_99/ibi10299.htm
5. Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2004. Manual de Malezas de la Región de Salvatierra, Guanajuato. En: Rzedowski, J. y G. Calderón de R. (eds.). Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Fascículo complementario XX. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
<file:///H:/informacion/Lycopersicon%20esculentum%20-%20ficha%20informativa.htm>).
6. (PROGRAMA NACIONAL DE MEDICINA COMPLEMENTARIA ESSALUD. (2001). Manual de fitoterapia . Lima- Perú. Pag. 7.)

7. Organización Mundial de Salud. Medicina Tradicional [Sitio web] 2005. Disponible en:
<http://who.int/features/qa/20/es/index.html>
8. (Navarro G, Fabiola R. Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R, et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. (2002).(Acceso 22 de mayo 2015) Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/guillermo_n_r/introduccion.htm
9. (Ministerio de Salud. I FORO Investigación y Biocomercio de Plantas Medicinales y Alimenticias de Uso Tradicional en el Perú.(2008). (Acceso 28 de Junio 2013).
<http://cdam.minam.gob.pe/publielectro/biocomercio/investigacionbiocomercio.pdf>)
10. Laza D, Rodríguez I, Sardina G. Descubrimiento y desarrollo de agentes cancerígenos derivados de plantas medicinales. *Rev Cubana PlantMed* [revista en Internet]. 2003 [citado el 12 de noviembre de 2006.];8(3).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962003000300012&script=sci_arttext&tlng=es)
11. Marcos A, Nova E, Montero A. Changes in the immune system are conditioned by nutrition. *Eur J. ClinNutr.* 2003 Sep; 57(Suppl 1):S66-9.
http://www.bvs.sld.cu/revistas/mil/vol36_4_07/mil04407.htm).
12. Centro de investigaciones de recursos naturales (CIRNA). Variación del contenido de vitamina c y antocianinas en *MYRCIARIA DUBIA* “camu camu”. *Rev Soc Quím Perú*[Internet]2013 Nov 11 [Citado 2015 Abril 20] 1 p disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v79n4/a04v79n4.pdf>
13. Alvis Davila, Rafael. Detección del efecto antimutagénico del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* H.B.K Mc Vaugh “Camu camu”, utilizando la prueba in vivo de micronúcleos. UNMSM. Lima- Perú 2010. [Disponible en web:
<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1357>]

14. Laboratorio de Reproducción y Biología de Desarrollo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Efecto citoprotector del camu-camu *Myrciaria dubia* en tres líneas celulares de ratón expuestos in vivo a bromato de potasio. . *Rev Soc Quím Perú*[Internet]2010 Dic [Citado 2015 Abril 22]
15. Emilio Guija Poma, Oscar Reátegui Arévalo y Luzmila Troncoso Corzo. Cinética de degradación térmica de vitamina C y capacidad antioxidante de camu camu (*Myrciaria dubia*) Y Mandarina (*Citrus reticulata*). Revista de la Universidad Científica del Sur. Lima- Perú 2010. (pp 16-22) [Disponible en web: <http://revistas.concytec.gob.pe/pdf/cimel/v14n1/a03v14n1.pdf>]
16. Juan Edson VILLANUEVA-TIBURCIO, Luis Alberto CONDEZO-HOYOS, Eduardo Ramirez ASQUIERI. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 30(Supl.1): 151-160, maio 2010. [Disponible en web: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v30s1/23.pdf>]
17. Sotero Solis Victor, Silva Doza Luz, García dde Sotero Dora, Imán Correa Sixto. Evaluacion de la actividad antioxidante de la pilpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K). Perú. 2009 [Disponible en web: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n3/a03v75n3.pdf>]
18. Karla Pacci-Salazar; Lizette Nureña-Noriega; José Vásquez-Cerro; Guillermo Araujo-Espinoza; Marco Gálvez-Niño. Eficacia tópica de *Myrciaria dubia* en la curación de quemaduras de segundo grado en ratas Holtzman. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú y Sociedad Científica San Fernando. 2009. [Disponible en web: <http://revistas.concytec.gob.pe/pdf/cimel/v14n1/a03v14n1.pdf>]
19. Dr. Castañeda C. B., Q.F. Ramos LL. E. Dra. Ibáñez V. L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico* | Volumen 8, N° 1, Julio 2008. [Disponible en web: <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/196/209>]

20. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Facultad de Medicina Humana. Universidad San Martín de Porres. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev Soc Quím Perú*[Internet]2007 Sep [Citado 2015 Abril 20] 1 p disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2007000300003
21. Henry Guija, Luzmila Troncoso, Emilio Guija. Propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria dubia*). Universidad Nacional mayor de San Marcos. Lima 2005. Disponible en web: [<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v66n4/a02v66n4.pdf>]
22. Rodney Vega Vizcarra, m. Sc. Manual de Valor Agradado de Camu Camu I Parte. PROYECTO DESARROLLO TECNOLOGICO Y USO SOSTENIBLE DE LOS PRODUCTOS DE LA BIODIVERSIDAD (BIOEXPORT) IIAP-UCAAYALI. Diciembre 2002. Disponible en:
<http://www.iiap.org.pe/promamazonia/sbiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/430.pdf>
23. Peters, Ch.; Vásquez, A. Estudios Ecológicos de Camu camu *Myrciaria dubia*. I. Producción de Frutos en Poblaciones Naturales. *En: Acta Amazónica 16 -17 (Número único). Brasil. 1986. pp. 161-174*
24. Pinedo Maria, Carlos Linares, Humberto Mendoza, Raul Anguiz. Plan de Mejoramiento Genético de Camu camu. Instituto de Investigacion de la Amazonia Peruana. Iquitos-Perú. 2004. Disponible en web :[
<http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/M008.pdf>]
25. (MBA. Q:F Diana Flores) PROYECTO PERUDIVERSO. Uso Historico: *Muyciaria dubia* McVaugh (H:B:K) Camu Camu. 31 de Agosto del 2010.
26. Villachica, H; Lazarte, J; Clavo, M; Lezcana, C; Arroyo, M y Díaz I. Productos amazónicos del Perú: Palmito, Camu camu y Uña de gato. CODESU – CIID. Pucallpa – Perú. 144p. 1998.

27. (Herminio Inga, Mario Pinedo, Cesar Delgado, Carlos Linares, Kember Mejia.) Fenología Reproductiva de *Muyciaria dubia* McVaugh (H:B:K) Camu Camu. *Folia Amazonica* Vol 12 (1-2)-2001.
28. Ferreyra, R. Camu camu, nueva fuente nacional de vitamina C. *En: Bol. Exp. Agropecuaria*, 1959, vol. 7, n° 4, p. 28.
29. Burckhardt, D., G. Couturier. Biology and taxonomy of *Tuthillia cognata* (Homoptera: Psylloidea), a pest on *Myrciaria dubia* (Myrtaceae). *Annis Soc. Ent. Fr.* 1988, vol. 24, n° 3, p. 257-261
30. WEISS, D. K. 1998. *Un estudio del mercado mundial para Camu camu*. Winrock International. Proyecto de Desarrollo Alternativo USAID/CONTRA- DROGAS. Convenio USAID - INADE. 18 pp.
31. Instituto de investigación de la Amazonia peruana. Definicion del producto camu camu. Rev Iiap [Internet]2013 jul 17 [Citado 2015 Abril 13] 2-3 p disponible en : <http://www.iiap.org.pe/promamazonia/sbiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/535.pdf>.
32. Pinedo Pérez, Tommy Eleazar. Evaluacion de la actividad inmunoestimulante del Aceite y semillas de *Plukenetia volubilis* L. en ratas albinas. UNAP. FFB. Iquitos 2010.
33. Murray, Robert k., Mayas, Peter A., Granner, Daryl K., rodwell, Victor W. Haper Bioquímica ilustrada. 16ª edición. Editorial El Manual Moderno 2003. (pp 552-553)(pp 657-663)
34. Ganong Wiliam F. Fisiología Médica. 11ª Edición. Editorial el Manual Moderno. Mexico 1988. (pp 439)
35. Seijo Ramil, Jose. Inmunología. Disponible en pagina web: [http://www.tirsoferrol.org/ciencias/pdf/a21_inmunologia (22)Centro de Investigaciones de Energía Solar. Santiago de Cuba, Adyudantes inmunologicos [Internet]2013 Feb 18 [Citado 2015 Abril 13

36. Trastornos Inmunitarios Disponible en pagina web:
[http://eusalud.uninet.edu/misapuntes/index.php/Trastornos_Inmunitarios]
37. Martin P, Leibovich S. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends cell Biol* 15 (11): 2005; pp 599-607.
38. Copeland k, Heeney j. T helper cell activation and human retroviral pathogenesis [Articulo en web] 1996; *Microbiol Rev* 60 (4) pp 722. Disponible en web:
[<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC239461/pdf/600722.pdf>]
39. Sproul T, Cheng P, Dykstra M, Pierce S. A role for MHC class II antigen processing in B cell development. *Int Rev inmunol* 19 (23).200; pp 139.
40. Graffar, Abdul. Immunology – chapter Seventeen: Hypersensitivity reactions. Microbiology and immunology on-Line textbook. USC School of Medicine [Sitio web] disponible en: [<http://pathmicro.med.sc.edu/ghaffar/hyper00.htm>]
41. Rodríguez F, Esteban M, Meseguer J, Bravo M, Gómez G, Rojas-Luna T, Jiménez G, Balcázar J. Estrategias de control de enfermedades en Acuicultura II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura CIVA 2003 (<http://www.civa2003.org>), 624-654.
42. Wira, CR; Crane-Godreau M, Grant K (2004). «Endocrine regulation of the mucosal immune system in the female reproductive tract». En In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, McGhee JR, Bienenstock J (eds.). *Mucosal Immunology*. San Francisco: Elsevier. ISBN 0-12-491543-4
43. Cutolo, M; Sulli A, Capellino S, Villaggio B, Montagna P, Seriolo B, Straub RH (2004). «Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity». *Lupus* **13**: pp. 635–638. doi:10.1191/0961203304lu1094oa.PMID 15485092

44. Yuli Moret de González. Vitamina. Influencia que ejerce en la cicatrización y alteraciones de la cavidad bucal. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, 1997 (pp:34-100).
45. Iván Palomo G., Arturo Ferreira V., Cecilia Sepúlveda C., mario Roseblatt S., Ulises Vergara C. Fundamentos de Inmunología Basica y Clinica. Editorial universidad de Talca. Talca-Chile, Julio de 2009. (pp: 633)
46. Neira A, Yuri J. El valor nutritivo de la Fruta. Boletín Técnico. POMACEAS. Universidad de Talca. 2004, Vol 4. No 4.
47. Castañeda B, Ramos E, Ibañez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Rev Horizonte Médico 2008; 8(1):56 -72
48. Bonilla, P.; Pareja, B. Flavonoides de *Ephedra americana* (pinco-pinco), acción biológica sobre el sistema inmunológico (IgE). Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales – UNMSM. [Artículo en Web]. 2001. [Acceso 16 de octubre de 2010]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/ciencia/v04_n1/Flavo_Ephera.pdf.
49. BETTS R, DOUGLAS et al. “Isoprinosine in experimental influenza a infection in volunteers”. abstracts of 78th annual Meeting of the American society for Microbiology. Las vegas, Nevada (1978). pag 14-15. y GRIECO M, REDY M. In vivo immunomodulation by Isoprinosine in patients with the acquired immunodeficiency syndrome and related complexes. Ann intern med (1984). pag 206-207)
50. Google maps: [<https://www.google.com.pe/maps/dir/-3.8894345,-73.3075978/Ninarumi/@-4.103193,-3.3939065,30821a,20y,39t/data=>

ANEXOS

FICHA N° 01: Recolección de datos para la evaluación inmunoestimulante

Modelo de estudio.....

Modelo biológico.....**Sexo**.....

Sustancia.....**Hora de administración**.....

Dosis.....**Fecha de inicio**.....**al**.....

Ficha de observación:

Marca	Peso g	Vi	Observaciones
B			
F			
L			
C			
PDD			
PDI			
PTD			
PTI			
OD			
OI			
F-L			
F-C			
F-PDD			
F-PDI			
F-PTD			

Vi : Volumen de Inoculo.

L : Lomo

PDD : Pata Delantera Derecha

PTD : Pata Trasera Derecha

OD : Oreja Derecha

F-L : Frente-Lomo

F-PDD: Frente- Pata Delantera Derecha

F-PDI: Frente- Pata Delantera Izquierda

F-PTD: Frente- Pata Trasera Derecha

F : Frente

C : Cola

PDI : Pata Delantera Izquierda

PTI : Pata Trasera Izquierda

OI : Oreja Izquierda

F-C : Frente-Cola

FICHA N° 02: Recolección de los resultados del efecto inmunoestimulante

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

B : Blanco

F : Frente

L : Lomo

C : Cola

PDD : Pata Delantera Derecha

PDI : Pata Delantera Izquierda

PTD : Pata Trasera Derecha

PTI : Pata Trasera Izquierda

OD : Oreja Derecha

OI : Oreja Izquierda

F-L : Frente-Lomo

F-C : Frente-Cola

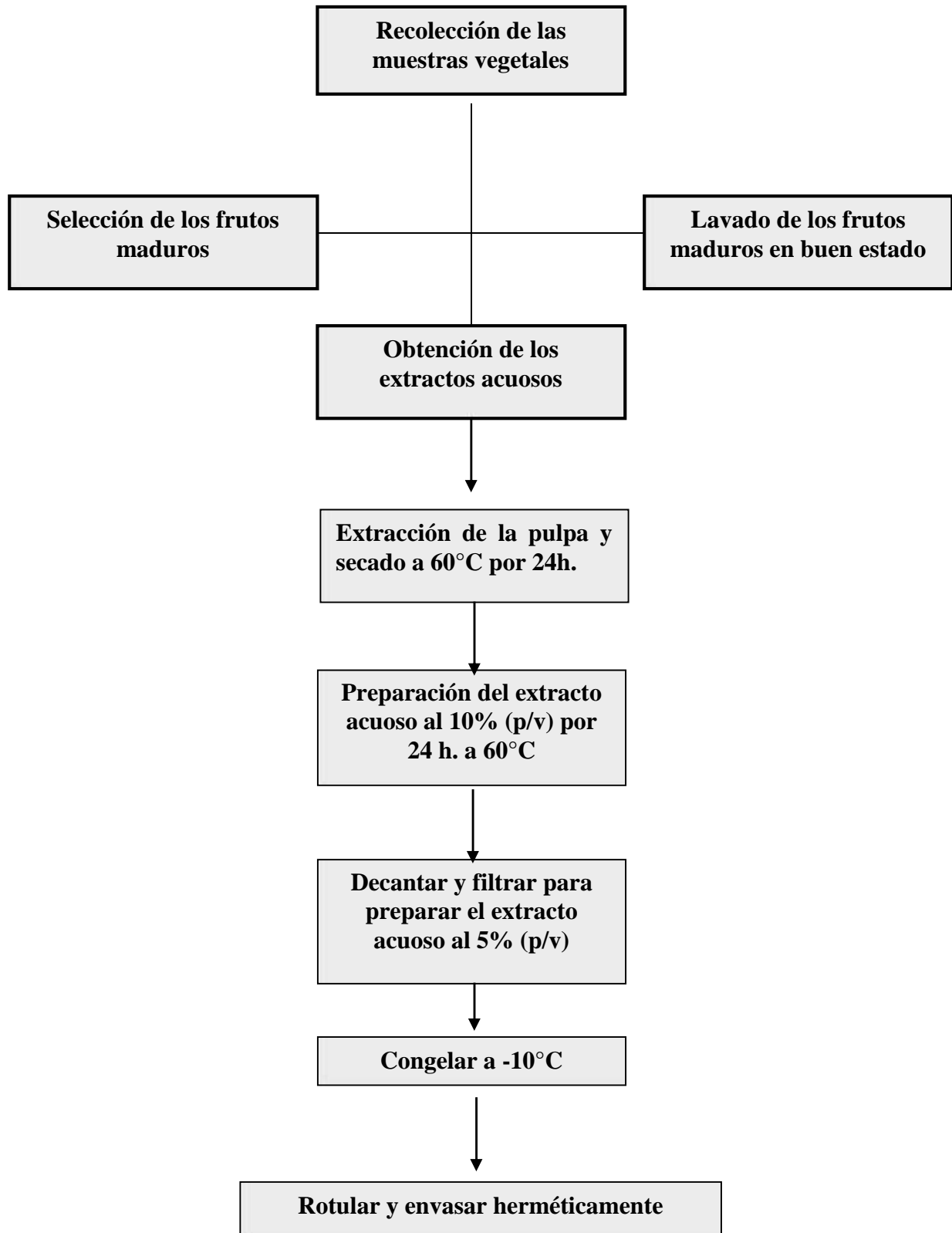
F-PDD: Frente- Pata Delantera Derecha

F-PDI: Frente- Pata Delantera Izquierda

F-PTD: Frente- Pata Trasera Derecha

: Longitud de Onda

FLUJOGRAMA.



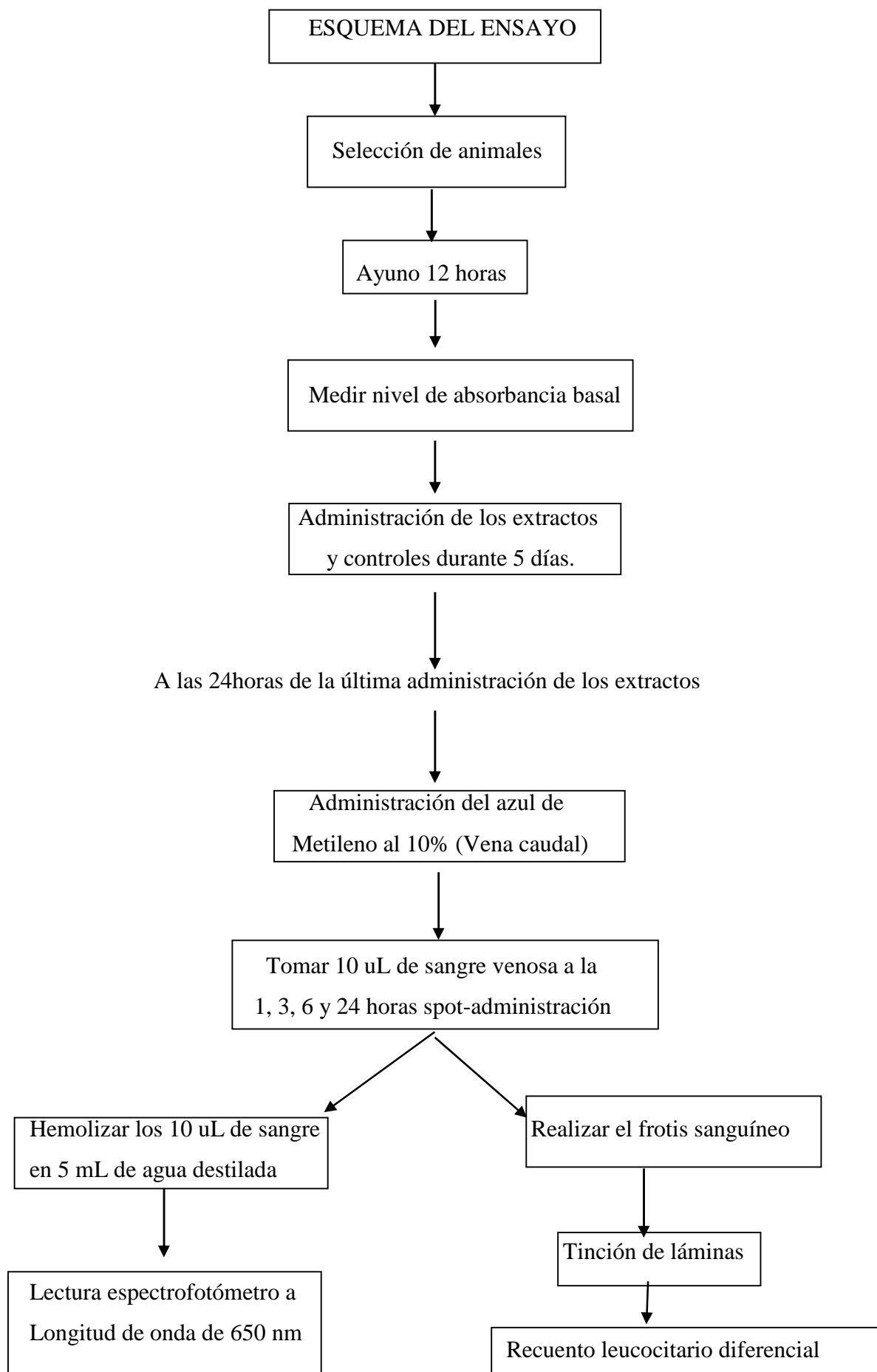


FIGURA N° 02: Descripción de *Myrciaria dubia* H.B.K. MC Vaughn “camu camu” A) Cultivo Natural camu - camu, B) Planta arbustiva, C) Rama con Inflorescencia, D) Inflorescencia Axial, E) Frutos inmaduros, F) Frutos maduros

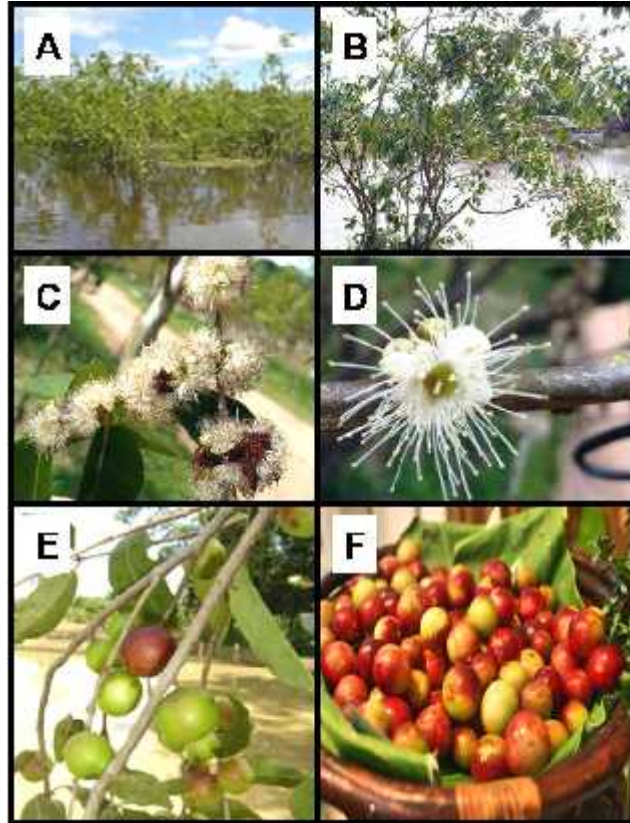


FIGURA N°03: Recolección de muestra vegetal.



FIGURA N°04: Lavado de la muestra vegetal



FIGURA N°05: Selección del fruto maduro



FIGURA N° 06: Pulpa del Camu Camu



FIGURA N°07: Animales en cuarentena



FIGURA N°08: Identificación de las ratas



FIGURA N°09: Pesado de las ratas



FIGURA N°10: Corte transversal de la cola



FIGURA N°11: Toma de muestra



FIGURA N°12: Administración de las sustancias de trabajo



FIGURA N°13: Administración del azul de metileno



FIGURA N°14: Análisis de las muestras

