

Efecto Anti Inflamatorio de los Fitoestrógenos del Extracto Hidroalcohólico del Aguaje (*Mauritia Flexuosa*) en Ratas Ovariectomizadas

Milagros A. Fuentes-Vargas¹

milagrosfuentes634@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-8939-0310>

Facultad de Medicina Humana
Universidad Católica de Santa María
Arequipa Perú

Lilian C. Lovón-Caso

lilianlovon5@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-8605-6982>

Facultad de Medicina Humana
Universidad Católica de Santa María
Arequipa Perú

Karla Torres-Chavez

ktorres@ucsm.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0003-4486-1796>

Facultad de Medicina Humana
Universidad Católica de Santa María
Arequipa Perú

RESUMEN

Introducción: Los fitoestrógenos, aparentemente tienen semejanza en cuanto a su estructura química con los estrógenos. La disminución de la concentración de estrógenos durante la menopausia se correlaciona con un número reducido de células B y T y una mayor secreción de citoquinas proinflamatorias. **Objetivos:** Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del aguaje (*Mauritia flexuosa*) en ratas wistar ovariectomizadas. **Material y métodos:** Se utilizaron 20 ratas hembras. Grupo 1: ratas hembras intactas + NaCl 1ml/100gr. Grupo 2: ratas OVX + Etinilestradiol 50 um/Kg. Grupo 3: OVX + EHA de 300 mg/Kg. Grupo 4: OVX + EHA 500mg/Kg. Luego de recibir el tratamiento se inyectó 0.1 ml de carragenina al 1% en la superficie de una pata trasera para obtener los datos en el incremento del diámetro del miembro inferior con ayuda de micrómetro. **Resultados:** Se usó la prueba estadística Anova en donde se observa la inflamación producida por la carragenina y en la prueba estadística de Dunn se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.01$) Conclusiones: Se detectó que el extracto de *Mauritia flexuosa* tiene un efecto antiinflamatorio después de una administración continua.

Palabras clave: *estrógenos; fitoestrógenos; inflamación; mauritia flexuosa; ratas wistar*

¹ Autor principal

Correspondencia: milagrosfuentes634@gmail.com

Anti-inflammatory effect of phytoestrogens from hydroalcoholic extract of water (mauritia flexuosa) in ovariectomized rats

ABSTRACT

Introduction: Phytoestrogens apparently have a similarity in terms of their chemical structure with estrogens. The decrease in estrogen concentration during menopause correlates with reduced numbers of B and T cells and increased secretion of proinflammatory cytokines. **Objective:** To determine the anti-inflammatory effect of the hydroalcoholic extract of aguaje (*Mauritia flexuosa*) in ovariectomized wistar rats. **Material and methods:** 20 female rats were used. Group 1: intact female rats + NaCl 1ml/100gr. Group 2: OVX rats + Ethinylestradiol 50 $\mu\text{m}/\text{Kg}$. Group 3: OVX + EHA of 300 mg/Kg. Group 4: OVX + EHA 500mg/Kg. After receiving the treatment, 0.1 ml of 1% carrageenan was injected into the surface of a hind leg to obtain data on the increase in the diameter of the lower limb with the help of a micrometer. **Results:** The Anova statistical test was used where the inflammation produced by carrageenan was observed and a statistically significant difference was obtained in Dunn's statistical test ($P < 0.01$). **Conclusions:** It was detected that the extract of *Mauritia flexuosa* has an effect anti-inflammatory after continuous administration.

Keywords: *estrogens; phytoestrogens; inflammation; mauritia flexuosa; wistar rats*

*Artículo recibido 16 setiembre 2023
Aceptado para publicación: 29 octubre 2023*

INTRODUCCIÓN

La inflamación es una respuesta frecuente e inmediata a estímulos nocivos externos e internos incluyendo infecciones, productos químicos, estrés físico, y patologías inmunes, siendo un fenómeno complejo que implica la acción de diferentes tipos de células y vías celulares ¹. Durante el proceso inflamatorio se activan nociceptores, inducción de la vasodilatación y reclutamiento celular de células activas por el sistema inmune ².

Los estrógenos son hormonas esteroides sexuales que están presentes tanto en hombres como en mujeres, pero circulan a niveles significativamente más altos en las mujeres durante la edad reproductiva; los estrógenos endógenos incluyen estrona (17α -E2), 17β -estradiol (E2) y estriol (E3)³. Niveles menores de estrógenos de mujeres mayores inducen una respuesta proinflamatoria más fuerte en comparación con los hombres debido a la senescencia del sistema inmune que conduce a una inflamación crónica de bajo grado ⁴.

El perfil inmunológico alterado en mujeres menopáusicas ha sido relacionado independientemente con cambios de los niveles fluctuantes naturales de estrógenos del cuerpo, a través de la extirpación quirúrgica de los ovarios, la menopausia natural o la administración de estrógenos exógenos¹⁷. Mujeres a las que se les han extirpado los ovarios, así como los que se encuentran en la menopausia natural, exhiben sistemáticamente inflamación ¹⁹. La disminución de la concentración de estrógenos durante la menopausia se correlaciona con un número reducido de células B y T y una mayor secreción de citocinas proinflamatorias ⁵

Además, se han encontrado niveles elevados de marcadores proinflamatorios como la interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) en mujeres a las que se les extirparon los ovarios quirúrgicamente ²⁰. Los niveles de marcadores proinflamatorios interleucina-6 (IL-6), IL-1, TNF- α aumentan significativamente en mujeres menopáusicas cuando disminuye la síntesis de E2 ²¹.

Los fitoestrógenos, en especial las isoflavonas; se caracterizan por tener una estructura química similar a los estrógenos; están conformados por varios grupos hidroxilo y un grupo aromáticos ⁶⁻⁸. Son las isoflavonas las que tienen afiliación con los receptores estrogénicos de tipo alfa y beta, estando en mayor grado los segundos ⁹.

De forma que las isoflavonas tienen mayor efecto en tejidos como el hueso, el sistema nervioso central y el endotelio vascular; ya que presentan una cantidad en alto grado de los receptores beta. ¹⁰.

El aguaje *Mauritia flexuosa* L, es una palmera que se encuentra altamente distribuido en países del hemisferio sur, de clima tropical, que se encuentra creciendo en territorios como Perú; siendo un alimento que se distribuye en muchas familias amazónicas ¹¹. En vista de que este fruto tiene como componente a los fitoestrógenos, es que cierto sector de la población amazónica le atribuye el poder de influir en la manifestación de los caracteres sexuales femeninos y cómo contribuye positivamente frente a los síntomas de la menopausia; sin embargo la acción de los fitoestrógenos es menor en comparación con los estrógenos ¹². Siendo así que esta fruta es usada en etapas postmenopáusicas y además, no ha reportado efectos adversos como la Terapia de Reemplazo Hormonal (TRH) como los son los accidentes cerebro vasculares, enfermedades coronarias así como favorecer el desarrollo de cáncer de mama y endometrio ¹³⁻¹⁵.

El objetivo del trabajo fue determinar el efecto antiinflamatorio de los fitoestrógenos del aguaje (*Mauritia flexuosa*) en ratas ovariectomizadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El tipo de investigación es experimental, transversal, en donde las unidades de estudio fueron las Ratas Hembras Wistar de 45 días a 3 meses, siendo la muestra de 20. La asignación del grupo fue en aleatorio simple; teniendo como variable independiente al extracto hidroalcohólico del fruto del aguaje y la variable dependiente el efecto anti inflamatorio.

Procedimiento

Preparación del extracto hidroalcohólico del fruto de aguaje (EHA): Se adquirió 6kg de aguaje, en el mercado San Camilo (Arequipa). Los frutos fueron desinfectados, lavados con agua potable y luego remojados en agua caliente por 4 horas en recipientes de acero con la finalidad de acelerar el proceso de maduración, hasta que el pericarpio pudiera retirarse con la yema de los dedos sin mayor esfuerzo ¹⁶.

Grafico 1

Aguaje (*Mauritia Flexuosa*)



Se separó la pulpa para la preparación del extracto. Cada 200 g de pulpa fueron licuados con 450 ml de alcohol al 70%. Esta mezcla se depositó en un envase ámbar herméticamente cerrado por una semana para su maceración; posteriormente se procedió a su filtración, para lo cual se utilizó una bomba de filtración al vacío. El filtrado fue llevado al rotavapor para extraer el alcohol, luego el líquido se depositó en placas Petri de vidrio que fueron puestas en una estufa a 40°C por 4 semanas para la evaporación de la parte líquida y así obtener el extracto seco. Para la preparación de las 3 concentraciones de EHA se pesó el extracto seco y se diluyó con NaCl ¹⁶.

Gráfico 2

Extracto de aguaje (*Mauritia Flexuosa*) en el rotavapor



Gráfico 3

Extracto de aguaje (*Mauritia Flexuosa*) colocado en la estufa

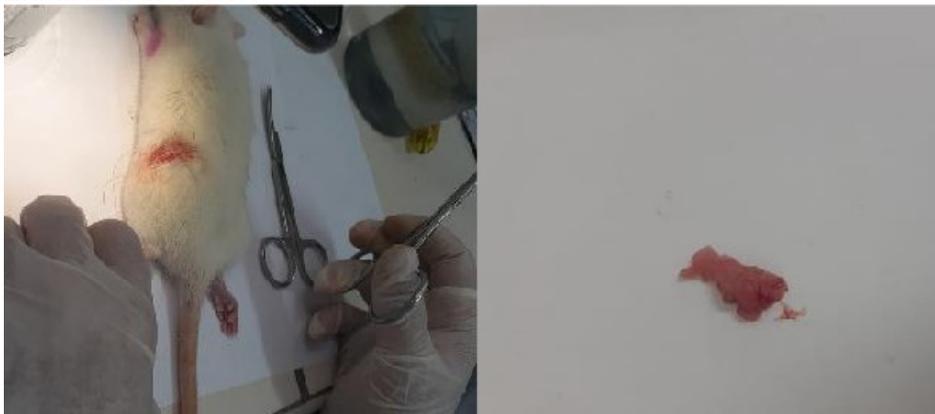


Preparación y agrupación de los animales: Las ratas hembra fueron adquiridas de la UCSM. Fueron alojadas en jaulas de crianza en el Bioterio de la universidad y alimentadas diariamente, además de contar con agua ad libitum. Los animales permanecieron en un ambiente de 20 a 22 °C de temperatura, 50 a 60% de humedad y ciclo de luz/ oscuridad 12:12. Luego se asignaron aleatoriamente los 4 grupos de estudio:

- Grupo 1 (n=5): ratas hembras intactas + NaCl 1ml/100 gr
- Grupo 2 (n=5): ratas OVX + Etinilestradiol 50 um/kg
- Grupo 3 (n=5): OVX + EHA de 300 mg/kg
- Grupo 4 (n=5): OVX + EHA 500 mg/kg

Ovariectomía (OVX): La ovariectomía (hembras de 45 días; (Gordon y Soliman, 1994)), previo rasurado del área lumbar lateral, se realizó a través de incisiones bilaterales de 1 cm aproximadamente para ubicar el ovario de dicha zona. Los paquetes de ovarios se ataron con suturas de seda 4-O y se extrajeron los ovarios. La fascia y la piel se cerraron con suturas de seda 4-O. Los procedimientos se llevaron a cabo bajo anestesia inducida por una inyección I.M. de una mezcla de ketamina (55 mg / kg) y xilazina (5,5 mg / kg). Se utilizó la inyección de ketoprofeno SC (5 mg / kg) para la analgesia postoperatoria (Roughan y Flecknell, 2000).

Grafico 4
Extracción de ovarios



Cuantificación de la inflamación: Recibido el tratamiento (2 semanas de EHA y 1 semana de etinilestradiol), a cada grupo de ratas se les provocó inflamación en sus miembros inferiores. Se inyectó 0,1 mL de carragenina al 1% en la superficie de una pata trasera para conseguir los datos en el incremento del diámetro del miembro inferior con ayuda del micrómetro. El edema fue expresado

como el incremento del diámetro de la pata inflamada en mm y se midió a los 30, 60, 120, 180 minutos.

Gráfico 5
Inyección de carragenina



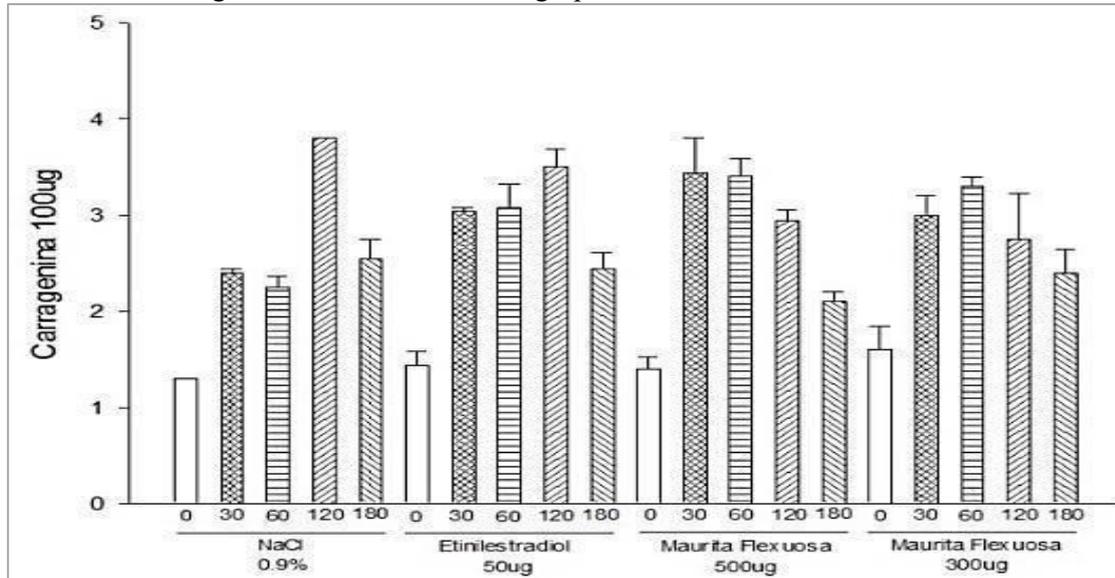
Gráfico 6
Medición de la Inflamación con el micrómetro



RESULTADOS

Tabla N° 1

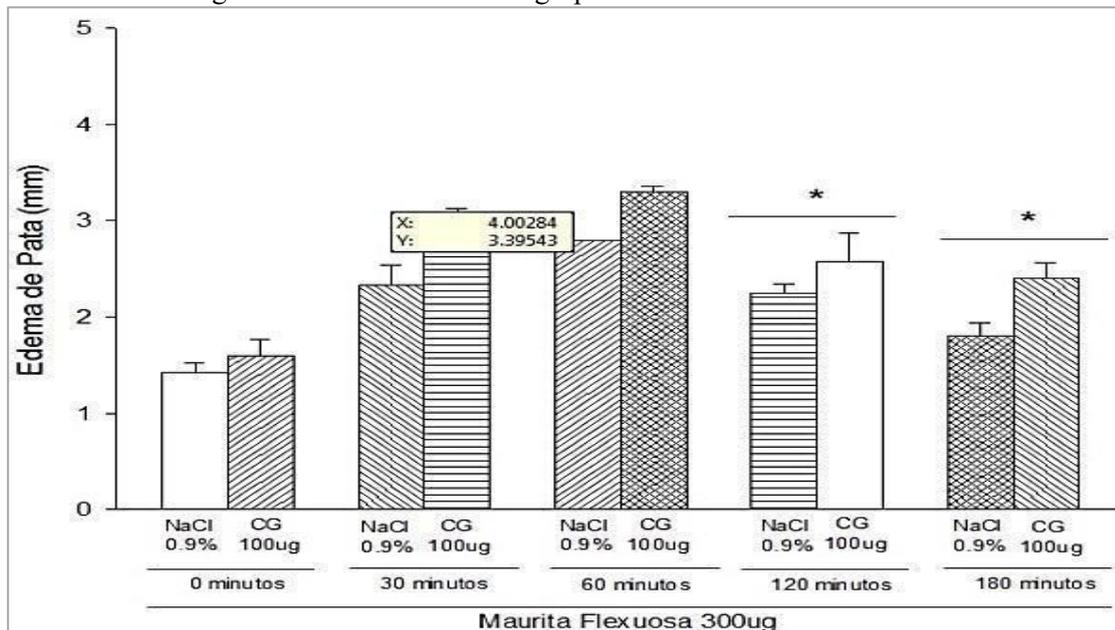
Efecto de la carragenina sobre los diferentes grupos de estudio



Usando la Prueba estadística Anova se observa que la inflamación producida por la carragenina se eleva y luego va disminuyendo progresivamente.

Tabla N° 2

Efecto de la carragenina sobre los diferentes grupos de estudio



Usando el Método de Dunn se observa que las diferencias en los valores medianos entre los grupos de tratamiento son mayores de lo que se esperaría; hay una diferencia estadísticamente significativa ($P = <0.01$)

DISCUSIÓN

La *Mauritia flexuosa* (Aguaje), es el fruto selvático de una de las palmeras más resistentes y cuantiosas en el Perú y en toda Sudamérica, dentro de los cuales destacan sus compuestos, los fitoestrogenos; quienes cumplen funciones en contra la menopausia, disminución de la incidencia de enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, así como también un efecto antiinflamatorio. En cuanto a lo que es fitoestrogenos, se ve que hay una variedad en el contenido de isoflavonas siendo dos de estas la biocanina A y la Genistein que se encuentran en mayor cantidad en el aguaje ¹⁶ .

Según Corina Danceu y Tefana Avram mencionan que los isoflavonoides son candidatos interesantes como agentes antiinflamatorios implicados en la modulación de procesos inflamatorios: actividades de eliminación de radicales, regulación de actividades enzimáticas de ácido araquidónico y el óxido nítrico, reducción de estímulos pro inflamatorios. Siendo necesario un mayor esclarecimiento de estos mecanismos.

Ademas Hämäläinen menciona el efecto inhibitor de la genistein contra la sintasa inducible del óxido nítrico (iNOS), el oxido nítrico (NO) y la COX2; con un resultado similar de mecanismo antiinflamatorio.

En el estudio de Amorim VR, Rodrigues DC et al, se examinó la actividad antiinflamatoria del epicarpio, mesocarpio y endocarpio obtenido de frutos de *M. flexuosa* La acción antiedematogénica se determinó usando agentes flogísticos para inducir edema de la pata y peritonitis. Se encontró que el edema inducido por carragenina disminuyó en ratones pretratados con epicarpio al igual que en nuestro estudio se observó la disminución de la inflamación ¹⁸

En el trabajo de Campos Karen y Gutierrez Cynthia , se investigó la actividad estrogénica del extracto hidroalcohólico del fruto de aguaje (*Mauritia flexuosa* L) en ratas ovariectomizadas. Este estudio demostró que el grupo que recibió la dosis de 500 mg/kg presentó mayor maduración celular vaginal a diferencia de las dosis menores y como conclusión obtuvo que el extracto hidroalcohólico del fruto de aguaje presentó actividad estrogénica en ratas ovariectomizadas en las células vaginales; a diferencia del nuestro que estudia el aguaje pero el efecto antiinflamatorio ¹⁶

En la tesis elaborada por Carmen Cusco de la UNMSM, se realizó una investigación fitoquímica y farmacológica del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. "Aguaje"; con el objetivo de determinar

compuestos fenólicos que posee el fruto de esta especie y su actividad estrogénica. Los resultados de la marcha fitoquímica muestran que el extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. "Aguaje" presenta en su composición abundante cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y alcaloides. El estudio farmacológico realizado determinó que el extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. "aguaje" utilizado disminuyó el nivel hormonal de estradiol sobre los valores normales en las ratas tratadas produciendo efecto antiestrogénico, a diferencia de nuestro estudio que propone que tiene un efecto estrogénico.¹²

En la tesis de Rosmeri Jara Horna (Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote) se investigó el efecto del extracto metanólico del fruto de *Mauritia Flexuosa* L. F (aguaje) en el aprendizaje y memoria espacial en ratas ovariectomizadas donde se concluyó que el extracto metanólico del fruto de *Mauritia flexuosa* L.f (Aguaje) a dosis de 50mg/kg/día y 25mg/kg/día. presenta efecto en el desarrollo del proceso cognitivo en el aprendizaje y memoria espacial 22.

Esto podría deberse a que los niveles bajos de estrógenos se han implicado en la etiología de la demencia en mujeres 23 ; por ejemplo, hay una mayor proporción de mujeres con enfermedad de Alzheimer que de hombres y un mayor riesgo de demencia en mujeres que se han sometido a una extirpación quirúrgica de los ovarios a una edad temprana Sin embargo, otro posible mecanismo para el deterioro cognitivo podría ser la inflamación del cerebro debido a la respuesta del sistema inmunitario a la disminución de los niveles de E2 24.

CONCLUSIONES

El estudio muestra que los fitoestrógenos del aguaje (*Mauritia flexuosa*) demostraron tener un efecto anti inflamatorio en ratas ovariectomizadas. Por lo que es recomendable que estudios posteriores puedan dilucidar en qué marcadores proinflamatorios actuaría para poder regular estas vías.

Agradecimientos

Al Dr. Henry Diaz (QEPD) por incentivarlos en la investigación formativa en el curso de Fisiología II, a la Dra. Karla Torres por asesorarnos y acompañarnos en todos los procedimientos, al Sr José del Bioterio por su paciencia, a la Dra Yulitza por permitirnos usar los equipos del laboratorio de Farmacia y Bioquímica, a la Dra Karim Vera por resolver nuestras dudas, al Dr del Carpio por apoyarnos con algunos insumos, a los encargados del laboratorio Sr. Vargas, Gary y César por todo su apoyo y

comprensión y a todas las personas que nos apoyaron desde el inicio hasta la culminación de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sobolewski C, Legrand N, Morceau F, Diederich M. Inflammation: novel arrows for an ancient target. *Biochem Pharmacol.* 2010 Dec 15;80(12):1769-70. doi: 10.1016/j.bcp.2010.06.026. Epub 2010 Jun 23. PMID: 20599801.
- Wittmann C, Chockley P, Singh SK, Pase L, Lieschke GJ, Grabher C. Hydrogen peroxide in inflammation: messenger, guide, and assassin. *Adv Hematol.* 2012;2012:541471. doi: 10.1155/2012/541471. Epub 2012 Jun 12. PMID: 22737171
- Morselli E, Santos R de S, Gao S, Ávalos Y, Criollo A, Palmer BF, et al. Impact of estrogens and estrogen receptor- α in brain lipid metabolism. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2018;315(1):E7-14.
- Desai MK, Brinton RD. Autoimmune Disease in Women: Endocrine Transition and Risk Across the Lifespan. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019 Apr 29;10:265. doi: 10.3389/fendo.2019.00265. PMID: 31110493
- Gubbels Bupp MR, Potluri T, Fink AL, Klein SL. The Confluence of Sex Hormones and Aging on Immunity. *Front Immunol.* 2018 Jun 4;9:1269. doi: 10.3389/fimmu.2018.01269. PMID: 29915601
- Murkies AL, Lombard C, Strauss BJ, Wilcox G, Burger HG, Morton MS. Dietary flour supplementation decreases post-menopausal hot flashes: effect of soy and wheat. *Maturitas.* 1995 Apr;21(3):189-95. doi: 10.1016/0378-5122(95)00899-v. PMID: 7616867.
- Dalais FS, Rice GE, Wahlqvist ML, Grehan M, Murkies AL, Medley G, Ayton R, Strauss BJ. Effects of dietary phytoestrogens in postmenopausal women. *Climacteric.* 1998 Jun;1(2):124-9. doi: 10.3109/13697139809085527. PMID: 11907915.
- Baber RJ, Templeman C, Morton T, Kelly GE, West L. Randomized placebo-controlled trial of an isoflavone supplement and menopausal symptoms in women. *Climacteric.* 1999 Jun;2(2):85-92. doi: 10.3109/13697139909025571. PMID: 11910672.
- Kotsopoulos D, Dalais FS, Liang YL, McGrath BP, Teede HJ. The effects of soy protein containing

- phytoestrogens on menopausal symptoms in postmenopausal women. *Climacteric*. 2000 Sep;3(3):161-7. doi: 10.1080/13697130008500108. PMID: 11910617.
- Nikander E, Kilkinen A, Metsä-Heikkilä M, Adlercreutz H, Pietinen P, Tiitinen A, Ylikorkala O. A randomized placebo-controlled crossover trial with phytoestrogens in treatment of menopause in breast cancer patients. *Obstet Gynecol*. 2003 Jun;101(6):1213-20. doi: 10.1016/s0029-7844(03)00232-1. PMID: 12798527.
- Paván R, Mancini J, Del Castillo D, Alvarado L. Caracterización química y estabilidad oxidativa de los aceites de tres morfotipos de *Mauritia flexuosa* L. f., de la Amazonia Peruana. *Laboratory of Natural Bioactive Substances Perú*Laboratory of lipids Brazil. 2010; 61(4): 390-397.
- Cusco C. *Determinación de los compuestos fenólicos presentes en el extracto metanólico de la pulpa del fruto Mauritia Flexuosa L. "aguaje" procedente de Tarapoto-San Martin y su efecto sobre el nivel de estradiol en ratas hembras normales. [Tesis Magisterial] Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2009.*
- Benvenuto R, Garay J. Los fitoestrógenos ¿Alternativa a la THR en el climaterio?. *Fronteras en Obstetricia y Ginecología* 2002; 2(1): 49-60.
- Haya J, Camil C, Perez T. Fitoestrógenos: conocimientos básicos y utilidad clínica. *Hospital Universitario Santa Cristina (Madrid). Toko-Gin Pract* 2002; 61(6):337-363.
- Becerra F. Fitoestrógenos: clasificación y metabolismo. Editorial Diaz de Santos, Madrid 2003: 266-275
- Campos-Correa, K., & Gutiérrez-Landa, C. (2018). Actividad estrogénica del extracto hidroalcohólico del fruto de aguaje mauritia flexuosa l en ratas ovariectomizadas. *Revista Peruana De Investigación Materno Perinatal*, 2(1), 14-18.
- Au A, Feher A, McPhee L, Jessa A, Oh S, Einstein G. Estrogens, inflammation and cognition. *Front Neuroendocrinol*. 2016 Jan;40:87-100. doi: 10.1016/j.yfrne.2016.01.002. Epub 2016 Jan 12. PMID: 26774208.
- Amorim VR, Rodrigues DC do N, Silva J do N, Ramos CLS, Almeida LMN, Almeida AAC, et al. Anti-inflammatory mechanisms of fruits and by-products from *Mauritia flexuosa*, an exotic plant with functional benefits. *J Toxicol Environ Health A*. 2021;84(11):441–57.

- Cioffi M, Esposito K, Vietri MT, Gaggero P, D'Auria A, Ardovino I, et al. Cytokine pattern in postmenopause. *Maturitas* [Internet]. 2002 Mar;41(3):187–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378512201002869>
- Pacifici R, Brown C, Puscheck E, Friedrich E, Slatopolsky E, Maggio D, et al. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 1991 Jun 15;88(12):5134–8. Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.88.12.5134>
- Pfeilschifter J. Changes in Proinflammatory Cytokine Activity after Menopause. *Endocr Rev* [Internet]. 2002 Feb 1;23(1):90–119. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/10.1210/edrv.23.1.0456>
- JARA HORNA R. Efecto del extracto metanólico del fruto de *Mauritia Flexuosa* L. f (aguaje) en el aprendizaje y memoria espacial en *rattus Norvegicus* var. *Albinus* ovariectomizadaS. [Tesis Magisterial] Perú. TRUJILLO – PERÚ UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE. 2018
- Rocca WA, Bower JH, Maraganore DM, Ahlskog JE, Grossardt BR, de Andrade M, et al. Increased risk of cognitive impairment or dementia in women who underwent oophorectomy before menopause. *Neurology* [Internet]. 2007 Sep 11;69(11):1074–83. Available from: <https://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/01.wnl.0000276984.19542.e6>
- Straub RH. The Complex Role of Estrogens in Inflammation. *Endocr Rev* [Internet]. 2007 Aug 1;28(5):521–74. Available from: <https://academic.oup.com/edrv/article/28/5/521/2355015>