UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSTGRADO

"ESTUDIO QUÍMICO ANALÍTICO DE LA GRASA DE IGUANA VERDE (*Iguana iguana*) - EFECTO CICATRIZANTE Y ANTIINFLAMATORIO SOBRE LESIONES INDUCIDAS EN RATAS"

TESIS
para optar al Grado Académico de
Doctor en Farmacia y Bioquímica

AUTOR
Carlos Alejandro Bell Cortez

Lima – Perú

2007

A mis padres, esposa e hijos, principales fuentes de estímulo, esfuerzo y superación.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. **NANCY LOZANO REYES**, asesora de esta tesis, mi profundo agradecimiento y mi eterna gratitud por su valiosa y paciente asesoría así como por el generoso tiempo brindado.

A la Corporación **MÓBIL OIL DEL PERÚ S.A**. por su apoyo en los análisis de Absorción Atómica y de Espectroscopia Infrarroja.

A la Corporación **TEXACO DEL PERÚ S.A**. por su contribución en el Análisis de propiedades físicas y de Espectroscopia Infrarroja.

Al Laboratorio **FARMACÉUTICA DEL PACÍFICO S.A.C.** por su asesoría y contribución para la determinación de vitamina A y vitamina E.

Al **Instituto Bioquímico Dr. F. Remy S.A.C.** por las facilidades brindadas en sus instalaciones para la realización de los análisis químico y bioquímico.

Al Biólogo-Zoólogo Mg. **JOSÉ LUIS PINO GAVIÑO,** por haberme acompañado a la ciudad de Piura para la identificación de la especie en estudio.

Al Mg. **CARLOS ALFREDO CANO PÉREZ,** por las muchas horas dedicadas a la revisión del manuscrito y por sus acertadas sugerencias.

A la asistente de la Cátedra de Química Analítica **EVELYN REQUIS CHACA**, por su generoso aporte y ayuda permanente.

SUMARIO

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN

II. GENERALIDADES

2.1.-Estudio de la especie

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1.-Material y métodos

3.2.-Procedimiento experimental

3.2.1 Captura de las iguanas grávidas

3.2.2 Extracción de la grasa

3.2.3 Análisis Físico-químico

3.2.4 Análisis instrumental

3.2.5 Evaluación farmacológica

3.2.5.1 Actividad cicatrizante

3.2.5.2 Actividad antiinflamatoria

3.2.5.3 Actividad antibacteriana

3.2.5.4 Prueba de sensibilidad cutánea y reactividad aguda en conejos

3.2.5.5 Toxicidad letal media DL50

3.3.- Ensayo Clínico Preliminar observado en una de las pacientes tratadas.

IV. RESULTADOS

V. DISCUSIÓN

VI. CONCLUSIONES

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIII. ANEXOS

RESUMEN

Se evaluaron los efectos cicatrizante, antiinflamatorio y antimicrobiano de la grasa de Iguana Verde (*Iguana iguana*) de hembras grávidas procedentes del distrito de Castilla, provincia de Piura, departamento de Piura (Perú). La grasa demostró que a dosis de 0,55 mL/kg (vía tópica) tiene actividad cicatrizante y claras evidencias de atenuar y/o borrar cicatrices sobre lesiones inducidas en ratas; también mostró tener propiedad antiiflamatoria mediante edema inducido por xyleno en oreja de ratón. Los resultados microbiológicos demostraron actividad antimicrobiana poco significativa. El estudio químico analítico reveló: proteínas totales (12%), albúmina (6,4%), úrea (0,05%),Fe (1ppm), Al (2ppm) y Cr (2ppm). Un análisis de composición de ácidos grasos realizado por Cromatografía gas-líquida en columna mostró los siguientes ácidos: mirístico (0,9 %), palmítico (28,9%), palmitoleico (6,2%), hexadecatrienoico ω_4 (0,2%), esteárico (7,0%), oleico ω_7 (4,0%), oleico ω_9 (34,9%), linoleico ω_6 (5,2%), linolénico ω_3 (9,7%), araquídico (0,1%), gadoleico ω_9 (0,5%), eicosadienoico ω_6 (0,1%), eicosatrienoico ω_3 (0,3%), araquidónico ω_3 (0,1%), araquidónico ω_6 (0,1%), docosapentaenoico ω_3 (0,1%). Asimismo, se investigaron las vitaminas E por HPLC y vitamina A por la técnica de la USP XXVIII concluyéndose que la grasa de iguana no contiene estas vitaminas. Respecto a su DL50 es inócua, la prueba de sensibilidad cutánea y reactividad aguda en conejos indica que no es irritante a la piel por lo que estaríamos ante una fuente de materia prima natural con un gran potencial para su empleo en dermatología.

.

Palabras clave: Grasa de Iguana Verde, Piura, Efecto cicatrizante, Efecto antiinflamatorio, Efecto antimicrobiano, Estudio químico analítico, Dermatología.

ABSTRACT

The cicatrizant effects were evaluated, anti-inflammatory and antimicrobial of the fat of Green Iguana (*Iguana iguana*) of pregnant female coming from the district of Castilla, county of Piura, department of Piura (Peru). The fat demonstrated that to dose of 0,55 mL / kg (via topical) has healing activity and whites evidences of to attenuate and/or to erase scars on lesions induced in rats; also showed to have property anti-inflammatory mediating edema induced by xyleno in mouse ear. The microbiological results demonstrated little significant microbial activity. The chemical analytic study revealed: total (12%) proteins, albumin (6,4%), úrea (0,05%), Fe (1ppm), Al (2ppm) and Cr (2ppm). An analysis of composition of fatty acid carried out by gas-liquid Chromatography in column showed the following acids: myristic (0,9%), palmitic (28,9%), palmitoleic (6,2%), hexadecatrienoic ω_4 (0,2%), stearic (7,0%), oleic ω_7 (4,0%), oleic ω_9 (34,9%), linoleic ω_6 (5,2%), linolenic ω_3 (9,7%), arachidonic (0,1%), gadoleic ω_9 (0,5%), eicosadienoic ω_6 (0,1%), eicosatrienoic ω_3 (0,3%), araquidonic ω_3 (0,1%), araquidonic ω_6 (0,1%), docosapentaenoic ω_3 (0,1%). Also, the vitamins E were investigated by HPLC and vitamin A by the technique of USP XXVIII being concluded that the iguana fat doesn't contain these vitamins. Regarding their DL50 it is innocuous, the test of cutaneous sensibility and sharp reactivity in rabbits it indicates that it is not irritating to the skin for what we would be before a matter source prevails natural with a great potential for their employment in dermatology.

Key words : Fat of Green Iguana, Piura, healing Effect, anti-inflammatory Effect, antimicrobial Effect, Study chemical analytic, Dermatology.

I. INTRODUCCIÓN

El interés por el estudio de la grasa de Iguana Verde (*Iguana iguana*) surge de la observación del empleo popular muy difundida en el departamento de Piura (Perú), de emplearla para favorecer el proceso de cicatrización y/o atenuar cicatrices, especialmente las dejadas por el acné, que son muy frecuentes durante la adolescencia. Este conocimiento basado exclusivamente en la observación, forma parte de la milenaria medicina tradicional que ostenta este importante departamento peruano, conocimiento al cual, se intenta darle valor científico en el presente trabajo.

La Iguana Verde, es una especie silvestre prehistórica que ha sido una fuente de alimento para el hombre por más de 7 000 años debido a su excelente sabor y calidad de carne, lo que ha traído como consecuencia, que su comercialización local haya aumentado significativamente. Actualmente, se le dan varios usos: carne y huevos para alimentación, grasa o aceite para uso medicinal, ecoturismo o turismo ecológico, entre otros (1).

De cada ejemplar grávida se obtiene promedio entre 1 a 2 kg de carne y entre 80 a 200 g de grasa(1). La carne ha sido y es una fuente de proteínas para los humanos; muchos campesinos pobres todavía dependen de las proteínas de las iguanas especialmente cuando están convalecientes, siendo muy frecuente el consumo del caldo concentrado.

También se le atribuye a la carne propiedades medicinales, especialmente como una cura para la impotencia. La grasa se usa con fines medicinales; se ha usado de forma eficiente para atenuar y/o borrar cicatrices, especialmente las dejadas por el acné. Para curar picaduras de araña y escorpión. Se cree que una compresa de esta grasa previene

várices y afloja los tendones (en casos de distensión muscular). Para el dolor de oídos, se aplica tapones de algodón con la grasa de iguana. Para problemas de bronquitis en niños se frota directamente la grasa de iguana en el pecho. Para tratar sinusitis, se aplica el aceite tibio en la frente y en toda la nariz antes de acostarse (1).

Este conocimiento empírico ameritaba darle validez científica, lo que podría permitir, a su vez, el desarrollo de proyectos que apoyen los esfuerzos de conservación de este valioso recurso natural, pues como se sabe, las potencialidades de la Iguana Verde en la zona norte del Perú (especialmente en Piura y Tumbes), a convertido su caza en una fuente de ingreso económico individual, familiar y local para sus pobladores, lo que ha traído consigo que el número de cazadores de iguana aumente causando disminución en su población, hecho que podría originar su extinción debido a la caza indiscriminada.

Por ello, se hace necesario desarrollar actividades o proyectos encaminados a lograr la protección y el aprovechamiento adecuado de esta especie debido a que es una fuente importante de proteínas para las personas, principalmente aquellas que viven en el medio rural.

II. GENERALIDADES

2.1 ESTUDIO DE LA ESPECIE

2.1.1 *REFERENCIAS HISTÓRICAS*

Históricamente el Perú ha aprovechado el uso de esta especie silvestre, a través de las diferentes poblaciones humanas e indígenas con que ha contado y cuenta actualmente.

Los antiguos peruanos residentes al norte del país capturaban iguanas con lazos cuando las encontraban en árboles o en sus nidos. Se refiere que el excremento de este animal es una medicina admirable para la cura del Leucoma (opacificación de la córnea), aplicándola cuando está fresca.

La Iguana Verde ha sido y es utilizada por diferentes grupos socio culturales de Perú y Centroamérica especialmente Honduras, desde antes de la conquista hasta nuestros días, pues se acostumbra el consumo de la carne y huevos como fuentes de proteínas animales, ya que su carne es de gran valor nutritivo, buen sabor y un bajo nivel de contenido de grasa. El gusto por el consumo de carne y huevos de Iguana Verde ha estimulando el comercio a escala local para consumo humano.

2.1.2 *UBICACIÓN SISTEMÁTICA*

La Clasificación Taxonómica de la Iguana Verde corresponde a la siguiente descripción (1):

REINO	:	Animal
CLASE	:	Reptilia
ORDEN	:	Squamata
FAMILIA	:	Iguanidae
SUBORDEN	:	Sauria
GÉNERO	:	Iguana
ESPECIE	:	*Iguana iguana*
NOMBRE COMÚN	:	"Iguana Verde"

Es conocida con múltiples nombres. En Panamá se le conoce como **"gallina de palo"** o **"gallina de árbol"**. En la lengua indígena se conoce como **"arri","ari", "ologisbagualele", "ologisbakua"**. En lengua Miskita su nombre es **"Kakamuk".** Algunos de los nombres con los que se conoce, se deben al sabor parecido que tiene con la carne de gallina común (1).

2.1.3 *DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA*

La Iguana Verde es propia de América Central y América del Sur. Se le puede encontrar desde México hasta Brasil y en algunas islas del caribe cercanas al continente americano, en las áreas donde sólo hay bosques, pero se adaptan a lugares desde el nivel del mar hasta los mil metros sobre el nivel mar. Les gustan los lugares donde no llueva todo el año, prefiriendo los sitios templados, ya que huyen del frío, y buscan la época seca para su reproducción y para calentarse. El promedio de temperatura al cual se adaptan para vivir muy bien, es de 32 grados centígrados aunque pueden vivir en temperaturas de 23 grados centígrados.
En el Perú tienen su hábitat en los departamentos de Piura y Tumbes (2).

2.1.4 *ESTUDIO BIOLÓGICO*



Fig 1. Iguana Verde grávida

La Iguana Verde (Fig.1) es un animal muy especial. Es el único reptil que vive en los árboles y que a la vez se alimenta de las hojas frutos y flores que produce el bosque tropical. En su estado adulto, puede llegar a pesar de 2 a 12 kilos y pueden llegar a medir hasta 2 metros, de la punta del hocico hasta la punta de la cola. Crece solamente donde aún quedan árboles. Después de alcanzar la madurez sexual, a los 2 o 3 años de edad, las hembras ponen de 10-85 huevos cada año (1).
Las iguanas son mayormente arborícolas, diurnas y sedentarias, a excepción de las hembras con huevos maduros.
Durante el período reproductivo, los machos adultos son territoriales y cohabitan con varias hembras, las iguanas pasan inactivas entre 90 y 96% de su tiempo, se desplazan con lentitud, si bien pueden correr con rapidez o lanzarse al agua

cuando son perseguidas. La iguana es considerada especie valiosa para el equilibrio ecológico especialmente por constituir fuente de proteína para algunos mamíferos y reptiles y por su labor de diseminación de semillas y abono orgánico enriquecedor de los bosques (2).

Todas las iguanas incluyen en su dieta una alta proporción de material vegetal, y todas son ovíparas

Ciclo de vida. Al nacer una iguana (Fig.2) pesa unos 12 gramos, y su cuerpo mide 7,0 cm (sin cola).



Fig 2. Nacimiento de iguana

Al tercer año puede reproducirse por primera vez, pero parece que algunas iguanas no lo hacen hasta el cuarto año. También hay hembras que son lo suficientemente grandes para reproducirse ya en su segundo año de vida. No sabemos durante cuántos años la iguana vive y se reproduce en su medio natural, pero se estima que puede ser alrededor de 10 años (3).

A los 30 meses de vida se pueden considerar adultas. Su reproducción es anual y coincide con el final del período seco e inicio de las lluvias, esto posiblemente está asociado con la mayor oferta de alimento. Colocan sus huevos en barrancos y playas. En túneles construidos de 10 a 12 pulgadas de profundidad donde logran crías relativamente abundantes, el tiempo de incubación es en promedio 75 días. Las hembras prefieren para anidar lugares arenosos, cerca de fuentes de agua y dependiendo de su tamaño pueden poner entre 10 y 85 huevos. Los huevos pesan y miden en promedio 4 g y 3,8 cm de largo X 2,7 cm de ancho (3).

En vida libre se estima que logran sobrevivir apenas el 25 % de lo neonatos, al primer año sobrevive el 3 % y sólo 1% llega a adultos. Los depredadores de neonatos principalmente, los constituyen los gavilanes, gatos, boas, y caimanes. Los adultos son depredados por boas, caimanes y otros

Hay una temporada de apareamiento (*Noviembre y diciembre*) y de puesta de los huevos (*febrero y marzo*). El comportamiento reproductivo empieza tres meses antes de la puesta de los huevos y su fertilización sucede de 3 a 6 semanas antes de la puesta.

Hábitos alimenticios. Debido a su dentición, la iguana no mastica su comida. Las hojas son perforadas y las secciones son desgarradas. Los frutos observados en los estómagos de las iguanas durante la estación seca no son masticados. La mayoría de ellos permanecen intactos en el estómago (1).

Las proteínas necesarias para su crecimiento las obtiene de hojas, frutas y flores. Las iguanas pequeñas dependen de hojas, que tienen poca fibra y alto valor nutritivo, es decir, depende de hojas tiernas.

Medios de defensa. Si la iguana es atacada y sitiada, adoptará una actitud defensiva. Al tratar de capturarla, ella, para intimidar hincha el cuello defendiéndose con las uñas, los dientes y usará la cola como látigo.

Toda esa belicosidad de nada le sirve, si quien la pretende es un hábil cazador, pues ágilmente la toma por el cuello y la cola dejándola imposibilitada para defenderse (1).

Su color generalmente verde, lo utilizan para confundirse con el follaje de los árboles (*mimetismo*).

Termorregulación. La iguana es mucho más económica en sus necesidades alimenticias que los mamíferos. Ella necesita menos de un décimo de la energía, es decir de comida, que consumen los mamíferos o aves para sobrevivir de un día a otro, lo que significa que con la misma cantidad de alimento, la iguana se puede mantener 10 veces más tiempo que por ejemplo una gallina. Ello se debe, principalmente, a que la iguana no necesita energía para mantener una energía constante como lo hacen los mamíferos y las aves (4).

Dimorfismo sexual. El macho tiene una fila de 17 glándulas en la parte de abajo de un muslo y 18 en el otro, que son excrecencias en forma de disco.

Cómo distinguir un macho de una hembra?



Fig 3. Iguana macho



Fig 4. Iguana hembra

El sexo de las iguanas no se conoce hasta que se reproducen por primera vez. Para estar seguros del sexo se debe tener a la iguana en la mano. En la parte inferior del muslo los animales de los dos sexos tienen una fila de puntos. Estos son orificios que se llaman poros femorales, por los cuales secretan una sustancia producida por las glándulas femorales. Dichos orificios son grandes en los machos (Fig.3) y muy pequeños en las hembras (Fig.4), así que los animales más grandes generalmente son machos. Con la experiencia uno puede también distinguir los machos de las hembras con sólo la observación de su cuerpo, el macho presenta un cuerpo más robusto y espinas dorsales más grandes que la hembra.

Reproducción. El apareamiento y la reproducción en la Iguana Verde es bastante particular con respecto a otros reptiles. Las iguanas se aparean estacionalmente. La actividad de apareamiento comienza en la última mitad de octubre, con tasas aumentadas de despliegue entre los machos. Las tasas de encuentro macho-hembra son altas en noviembre (5). En los primeros días de diciembre, los grandes machos han establecido sus territorios con 1-4 hembras. La copulación ocurre durante las primeras 6 semanas de la estación seca, de diciembre a mediados de enero. Las hembras se aparean preferencialmente con los machos grandes y pueden aparearse varias veces durante un período de apareamiento (6).

El comportamiento reproductivo: A comienzos de octubre, el macho escoge un área de manera que se vea bien visible para hembras y otros machos. Escoge una parte de un árbol donde no permite que otros machos entren (7). Estos lugares bien visibles tienen muy pocas hojas, razón por la que los machos no comen mucho durante el período de apareamiento. Si saliera de su territorio para alimentarse, otro macho entraría en su territorio y el macho dueño correría el riesgo de perderlo.

La iguana, así como todos lo reptiles tienen una fertilización interna. Los machos cuentan con dos órganos para fertilizar a las hembras llamadas hemipenes. Son estructuras suaves localizadas en la base ventral de la cola apuntando hacia el final de la misma en inactividad. Para copular a la hembra, el macho invierte los hemipenes. Durante el apareo el macho utiliza sólo uno de esos hemipenes (1).

Una vez que todas las hembras están fertilizadas, en diciembre/enero, los machos dejan de defender su territorio y salen para alimentarse y recuperar la pérdida de peso sufrida durante la época reproductiva.

Uno o dos meses después de la cópula, las iguanas depositan sus huevos, los cuales al cabo de un período de incubación de tres meses, las iguanas recién nacidas emergen de los nidos en correspondencia con el inicio de la estación lluviosa que es particularmente favorable para esta especie.

Anidación. La hembra cuando hace el siguiente hueco para anidar, puede cavar en un nido que haya sido completamente hecho, sacan los huevos que son ignorados por las otras iguanas.

Áreas de nidación y puesta de los huevos: Una vez que los huevos están formados, todo el espacio del vientre está lleno, y queda poco espacio para el alimento. La hembra es un bulto poco ágil y sin defensa. Es ahora que debe bajar de los árboles en busca de sitio donde pueda enterrar su puesta. Durante las semanas que la hembra pasa en el suelo, está expuesta sin defensa ante los depredadores y el hombre (8).

El número de la puesta depende del tamaño de la hembra y constituye el 32% del peso de la misma. La primera puesta es más pequeña que las que siguen y consiste de 8 a 28 huevos en cautiverio. La puesta más grande que se ha encontrado constaba de 85 huevos (9). El número promedio de huevos en una puesta es de alrededor de 30 a 40. El desarrollo de los huevos depende de las condiciones que ofrece el nido. Un ambiente demasiado seco o húmedo daña los huevos. La temperatura que ofrece el mejor desarrollo es entre 29 y 31 °C y una humedad de 10 a 15%. Estas condiciones no se encuentran dentro del bosque ya que la temperatura no es lo suficientemente alta. Por lo tanto, las hembras buscan áreas abiertas, tales como playas de ríos o de mar, áreas de cultivo u otros sitios sin o con poca vegetación, donde el sol calienta la arena. Ya que la hembra es presa fácil para otros animales y el hombre, ella prefiere anidar en áreas donde hay arbustos espinosos que dificultan el acercamiento de predadores (10).

Mortalidad. Observaciones de campo indican que sólo 3% a 5% de todos los recién nacidos sobreviven el primer año. Ya que se pierden alrededor de 50% de los huevos en el proceso de incubación, al final del año viven solamente 1,5 a 2,5 % recién nacidos del total de huevos puestos (9).

Fuente de proteínas para el hombre. Se consumen sus carnes y huevos en la alimentación popular. Generalmente se asan o hierven para hacer sopas que tienen un sabor agradable, especialmente la parte correspondiente a la cola de las mismas.

Además, el uso de la piel para la fabricación de artículos de artesanía (bolsos, zapatos, cinturones y carteras) constituye un ingreso adicional para los pobladores del lugar (11).

2.1.5 *COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE DE IGUANA*

Según reporta N. Flores (1), ***Iguana iguana*** tiene los siguientes contenidos de nutrimentos en 100 gramos de carne cocida: 24,4 g de proteína, 0,9 g de grasa, 25 mg de calcio, 3,41 mg de hierro, 0,05 mg de tiamina, 0,24 mg de rivoflavina, 8,2 mg de niacina, 225 μg de retinol.

2.1.6 *ESTUDIOS REALIZADOS CON IGUANAS Y/O GRASA DE IGUANA*

La mayoría están relacionadas con el manejo de Iguanas en cautiverio (comportamiento, reproducción, etc.), así como de antecedentes, principios y reglamentación de la zoocria. Sin embargo, en la literatura revisada se encuentra que:

FLORES (1994), Reporta que los pobladores de la zona de la Brus Laguna (Honduras), utilizaban la manteca o aceite de la Iguana verde para frotar músculos adoloridos y también para calmar el dolor de oídos, aplicando tapones de algodón con esta grasa del animal (12).

Por otro lado, el estudio de ácidos poliinsaturados y el efecto cicatrizante, ha sido descrito en plantas medicinales, tal como los estudios realizados por:

SANCHO P. (1998), Reporta un estudio de revisión referente a los ácidos poliinsaturados, en cuanto a su estructura, metabolismo, fuentes, tipos y aplicaciones terapéuticas (principalmente en dermatología)
Otros reportes señalan el uso medicinal para problemas de bronquitis en los niños, con la aplicación de esta grasa en el pecho (13).

DOMÍNGUEZ et al.(2001) en *Bryophyllum pinnata* (Siempreviva), ellos evaluaron el efecto cicatrizante del extracto fluido con 4,5 % de sólidos totales en 12 ratas albinas Wistar, machos de aprox. 200 g de peso, asimismo utilizaron 12 ratas de las mismas características como control. A ambos grupos se les produjo una herida de 2 cm de diámetro, Al cabo de 21 días sacrificaron los animales y observaron y compararon los cortes histológicos de ambos grupos, concluyendo

que la aplicación tópica del extracto fluído de hojas de Siempreviva (*Bryophyllum pinnata*) influye favorablemente sobre el cierre de las heridas, así como en la maduración de la dermis, por lo que favorecería la cicatrización (14).

CANAVESE et al.(2001) reportan la actividad cicatrizante de una pomada orgánica natural, la cual contenía aceite de hígado de bacalao, extracto de conferí, extracto cítrico, óxido de zinc y vehículo (Creamex ®) en 40 ratas Wistar, machos con aprox. 225 g de peso, los mismos que fueron separados en dos grupos: grupo I, cicatrización con pomada orgánica natural; grupo II, con solución salina fisiológica. A los dos grupos se les practicó una herida abierta en la región dorsal de 2 cm de diámetro. Al cabo de 21 días se realizó la observación histopatológica. Los resultados demostraron que el efecto cicatrizante de la pomada orgánica natural fue muy superior con respecto a las ratas que se les administró la solución salina fisiológica (15).

GUILLERMO R. (2002), evaluó el efecto cicatrizante del tallo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P., administrado bajo la forma de geles al 5%, 10%, 20% y 30% p/p del extracto vegetal en ratones albinos cepa Balb C de aprox. 53 g de peso. Para evaluar el efecto cicatrizante utilizó el método tensiométrico corroborado con cortes histológicos, concluyendo que el mayor efecto cicatrizante se obtuvo con el gel al 5% (16).

MARTÍNEZ et al.(2003) realizaron el estudio de la actividad cicatrizante de las hojas y flores de *Bidens alba Linné* (romerillo), para ello tomaron 40 ratones Balb C separados en 4 grupos: grupo I, centinela (normal); grupo II, cicatrización sin tratamiento; grupo III, cicatrización con merbromin; grupo IV, cicatrización con extracto fluído de romerillo con 4,5% de sólidos totales. A los grupos II, III y IV se les practicó una herida abierta en la región dorsal de 2 cm de diámetro. Al cabo de 21 días se realizó la observación histopatológica. Los resultados que obtuvieron demostraron la acción favorable del extracto de romerillo en el cierre de la herida (17).

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.1 *MATERIAL BIOLÓGICO*

- Ratas Holtzmann hembras de 180 – 200 g de peso.
- Ratones Swiss de 20-25 g.
- Conejos albinos, machos, de 2 a 2,5 Kg.

Todos procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud.

3.1.2 *MATERIALES DE VIDRIO Y OTROS*

Beaker – Tubos de ensayo – Embudos – Viales – Jeringas estériles descartables – Papel Whatmann N° 40 – Sondas esofágicas – Guantes quirúrgicos – Bisturí – Marcador (violeta de genciana) – Torundas de algodón – Jaulas de aluminio – Tabla quirúrgica para ratas – Pinzas – Tijeras – Frascos estériles –Láminas porta y cubre objetos – Micrótomo – Parches oclusivos – Lápiz de cera – Gasa aséptica – Reloj - Cocinilla eléctrica – Mecheros Bunsen.

3.1.3 *EQUIPOS*

Cromatógrafo de gases – Espectrofotómetro U.V. / VIS – Absorción atómica – Cromatógrafo de Alta Resolución (HPLC) – Estufa – Mufla – Balanza analítica – Balanza de animales menores – Lámpara de luz ultravioleta – Centrífuga.

3.1.4 *REACTIVOS*

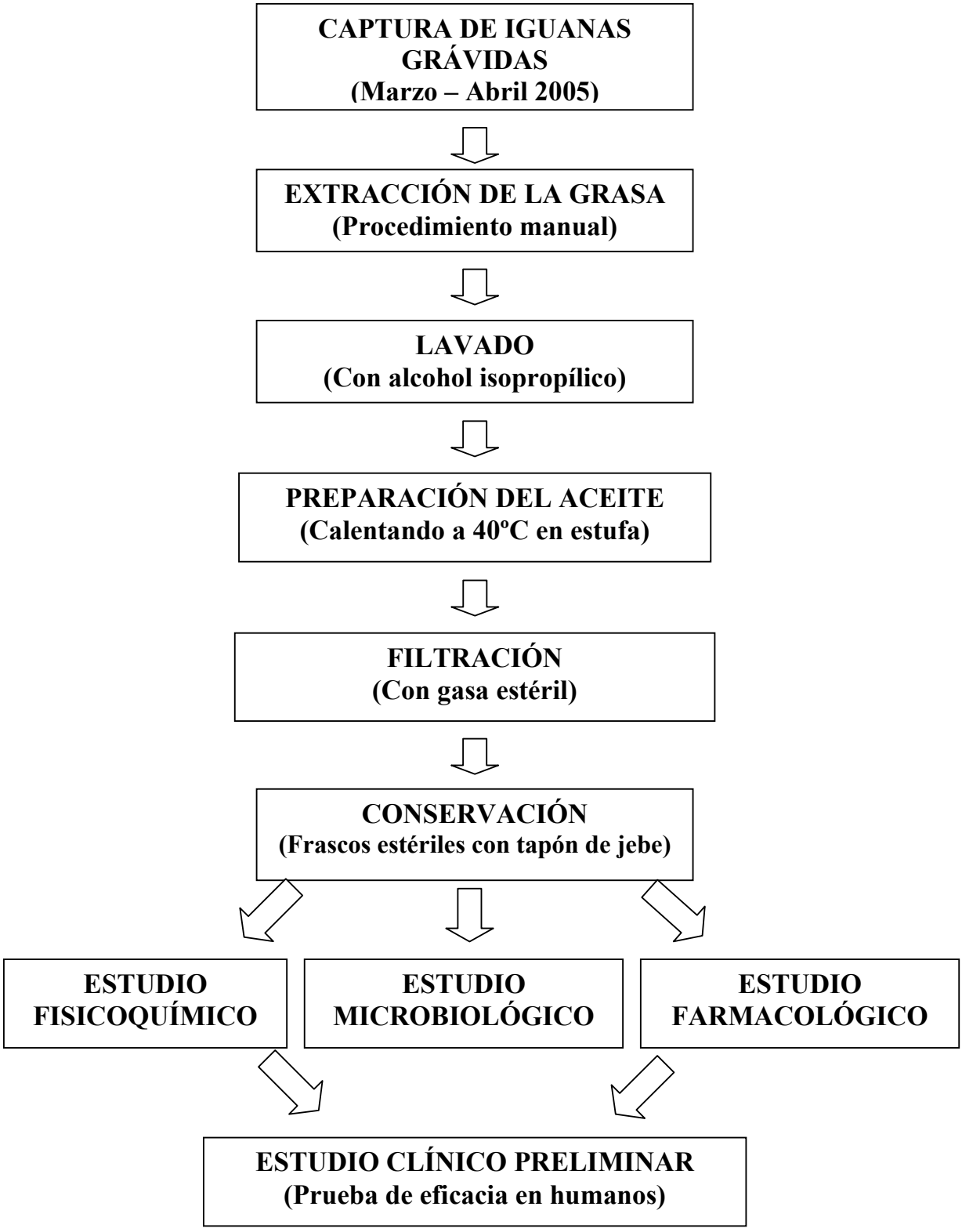
Agua destilada estéril – Solución salina e isotónica (NaCl 0,9%) – Alcohol isopropílico – Cloroformo – Acetona – Diclorometano –Metanol – Éter etílico – n-Hexano – Crema depiladora comercial – Pentotal sódico – Cera parafina – Coloración de hematoxilina eosina – Xilol – Bálsamo del Canadá – Solución acuosa de azul de Evans al 1% – Solución de formaldehído al 10% – Etanol absoluto – Aceite vegetal (solución control).

De acuerdo con el esquema N° 1, que resume el diagrama de flujo empleado para el estudio de la grasa de **Iguana Verde** (*Iguana iguana*), el siguiente es el procedimiento seguido.

ESQUEMA Nº 1

DIAGRAMA PARA EL ESTUDIO DE LA GRASA DE IGUANA VERDE

***(Iguana iguana*)**



3.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.2.1 *CAPTURA DE IGUANAS GRÁVIDAS*

Teniendo en cuenta su época reproductiva, durante los meses de Marzo y Abril (1) del año 2005, se inició la captura de hembras grávidas en la hermosa ciudad de Piura, provincia de Piura, distrito de Castilla, ubicada sobre la costa en el extremo norte del Perú a 29 m.s.n.m. La cantidad de hembras capturadas durante este periodo fue de 6 ejemplares. La captura se llevó a cabo durante el día en horas de la mañana cuando se asolean, desde las 10:00 de la mañana hasta las 13:00 horas aproximadamente. Se tuvo especial cuidado durante esta maniobra, pues al ser capturadas éstas tienden a morder, arañar o dar latigazos con su cola. Sin embargo, cuando la hembra está grávida, su captura se facilita pues como tienen el vientre aumentado se vuelven lentas y presentan poca agilidad para defenderse.

3.2.2 *EXTRACCIÓN DE LA GRASA DE IGUANA*

Las iguanas así capturadas, todas pertenecientes a la especie *Iguana iguana,* fueron sacrificadas para la extracción de su grasa ubicada a cada lado del abdomen (Fig.5). La muestra se lavó con alcohol isopropílico, guardó en vial estéril y se mantuvo en refrigeración hasta su procesamiento en Lima. La carne que es muy apreciada en la zona por su alto contenido proteico fue degustada por los pobladores del lugar.



Fig 5. Localización de la grasa de iguana

3.2.3 *ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LA GRASA DE IGUANA (PROTOCOLO)*

La grasa de Iguana contenida en vial estéril, se colocó en estufa regulada a 40º C con la finalidad de volverla líquida. Se filtró luego con gasa estéril y así quedó lista para la investigación. Con esta muestra se efectuaron los análisis físicos: aspecto, color, olor, sabor, pH, humedad, densidad, coeficiente de solubilidad. Análisis químicos: acidez, cenizas, índices de refracción, saponificación, peróxido, yodo, grasas totales, cationes (18) y (19). Análisis bioquímicos: proteínas totales, albúmina, úrea, colesterol, HDL, LDL, VLDL.

Los metales se investigaron por Absorción Atómica en las instalaciones de MOBIL OIL DEL PERÚ S.A., utilizando un espectro de Absorción Atómica Perkin-Elmer 11003 de Haz simple, ISO 9 000 por comparación con soluciones estándar organometálicas de marca Conostan 5 ppm, para todos los metales analizados.

Para determinar el coeficiente de solubilidad de la grasa de iguana se procedió de la siguiente manera: 0,5 g de la grasa se mezcló en frío con 10 mL de los diferentes disolventes (reportados en el protocolo de análisis-tabla 2) durante 48 horas; luego se separó el disolvente por decantación y se evaporó a baño maría obteniéndose el porcentaje de sustancia que se solubiliza en cada disolvente.

3.2.4 *ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LA GRASA DE IGUANA*

Se realizaron las siguientes Pruebas de Laboratorio:

1. Identificación en el Espectrofotómetro Infrarrojo
2. Identificación en el Espectrofotómetro UV-Visible
3. Ensayo de Vitamina E por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)
4. Ensayo de Vitamina A por la Técnica de la Farmacopea USP 28
5. Identificación y cuantificación de ácidos grasos por Cromatografía de Gases

1. Identificación en el Infrarrojo

Equipo: Espectrofotómetro Infrarrojo

Marca: Perkin Elmer

Modelo: Spectrum One FT-IR

Se realizó un espectro Infrarrojo a la muestra "tal cual" de aceite de iguana, presentando una serie de picos, en cada uno de los cuales se señala su respectiva longitud de onda frente al 1% de Trasmitancia.

2. Identificación en el Espectro UV-Visible

Equipo: Espectrofotómetro

Marca: Perkin Elmer

Modelo: Lambda 35

Se preparó una solución de concentración 10 mg/mL de aceite de iguana en metanol y se determinó su espectro en el rango UV-Visible de 200 a 450 nm.

3. Ensayo de Vitamina E por HPLC

Se realizó el ensayo para la determinación de vitamina E por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC), usando como comparación el análisis de Vitamina E al 50%.

Equipo: Cromatógrafo Líquido de Alta presión

Marca: Hewlett Packard

Modelo 1100

Standard secundario: Vitamina E 50% Pot.: 50,7% B. T.: 0078982

Dilución: 2000,1 mg/100mL

Muestra 1, Materia prima Lote 0085765, Dilución: 201,0/100 mL

Muestra 2, Aceite de iguana, Dilución 1014,3 g en 100 mL

Diluente de muestras y estándares: Metanol

Fase Móvil: Metanol-Ácido Fosfórico 1% (97:3)

Concentración final de estándares y materia prima: 2mg/mL

Flujo: 2 mL / min

Columna: L1

Longitud de onda: 254 nm

Volumen de Inyección: 20 μL, en el caso de aceite de iguana después del primer resultado se aumentó a 100 μL

.

4. Ensayo de Vitamina A (USP 28)

Se realizó el ensayo para la determinación de Vitamina A de acuerdo a la Farmacopea USP 28, con 1,0 g de muestra aceite de iguana. El procedimiento indica: saponificación con potasa alcohólica y extracción con éter etílico; se toma una alícuota y se evapora hasta 3-5 mL, para luego diluir con alcohol isopropílico y leer al espectrofotómetro en el rango UV.

5. Identificación y cuantificación de ácidos grasos

Se realizó por Cromatografia de Gases según el método de la AOCS Official Method Ce 1b-89, Fifth Edition 1997 Fatty Acid Composition by GCL (20) y (21).

3.2.5 *EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA*

3.2.5.1 ACTIVIDAD CICATRIZANTE:

El estudio farmacológico del efecto cicatrizante se realizó en ratas hembras albinas cepa Holtzmann de más o menos 180-200 g de peso (Fig.6). Previamente fueron adaptadas a condiciones adecuadas en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UAP, durante 4 días, proporcionándoles alimentación balanceada y agua a voluntad (22) . Se siguió el procedimiento que se indica a continuación :



Fig 6. Ratas depiladas distribuidas aleatoriamente en grupos

- Dos días antes de iniciar el experimento, se depiló con una crema depiladora comercial todo el lomo de las 48 ratas que se utilizaron en el estudio.

➢ El día del ensayo se procedió ha anestesiar a cada rata con Tiopental sódico inyectable (Pentothal sódico-Abbott) a una dosis de 40mg/kg de peso (Fig.7).

➢ Para mitigar el dolor de los animales de experimentación y en cumplimiento con las normas éticas en el manejo de animales, se les administró cada 12 horas durante los primeros 7 días el analgésico paracetamol por vía oral en dosis de 50 mg/kg.



Fig 7. Anestésico comercial empleado

➢ Luego, se procedió a practicar tres tipos de lesiones (Fig. 8 y 9) a cada rata en la región dorsal depilada:

a) Incisiones asépticas de 2 cm c/u. (tres incisiones)

b) Quemaduras con metal caliente. (tres quemaduras)

c) Heridas circulares con el llamado sacabocado. (tres heridas) (Fig. 10)



Fig 8. Heridas producidas en el área dorsal depilada de la rata

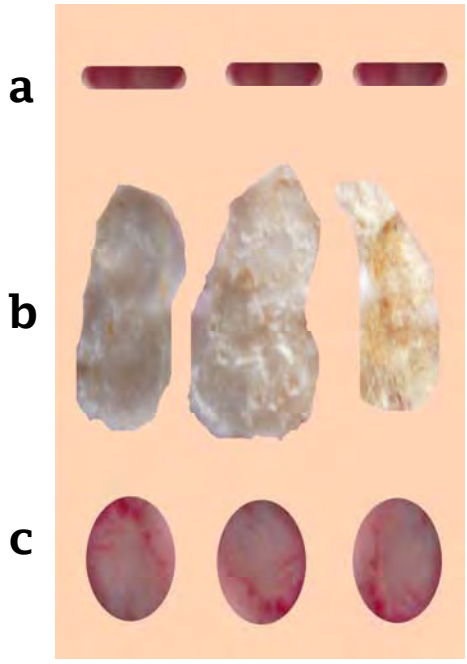


Fig 9. Esquema de las heridas producidas en el área dorsal depilada de la rata



Fig 10. Materiales con los que se practicó las lesiones en ratas

➢ Seguidamente, todavía anestesiadas se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos de doce animales cada uno:

Grupo I (Grupo problema) : Se administró aceite de Iguana 0, 55 mL/kg.
Grupo II (Grupo control positivo): Se administró colagenasa 1000 UI 0,5 g/ kg.
Grupo III (Grupo control negativo 1): Agua destilada 0,55 mL/kg.
Grupo IV (Grupo control negativo 2): No se le administró nada y se utilizaron para envejecimiento de cicatriz.



Fig 11. Aplicación tópica de la grasa de iguana

- Veinticuatro horas después de la operación y durante veinte días, los animales de experimentación (excepto el grupo IV) recibieron diariamente la medicación que se indica en forma tópica, la que se aplicó durante la noche (7:00pm) para que coincida con el sueño y de esta manera evitar que puedan lamerse la medicación. (Fig. 11)

- Las heridas se observaron y evaluaron diariamente.

➢ Después de 21 días se sacrificaron los animales de los tres primeros grupos y se recortó una muestra de un centímetro de piel en las zonas de cicatriz.

➢ Se sujetó la piel en una placa de tecnopor y se fijó en formol al 10% por un tiempo de 24 a 48 horas.



Fig 12. Recorte de muestra de piel de rata que presenta la cicatriz

➢ Los fragmentos de piel se procesaron por la técnica de inclusión de parafina y coloración con hematoxilina y eosina para su estudio histopatológico.

➢ Al Grupo IV (Grupo control negativo 2) luego de los 21 días de cicatrización natural y sin haberle agregado absolutamente nada, previa depilación del lomo cada diez días, se comenzó aplicar en forma tópica diariamente, la dosis indicada de aceite de iguana por espacio de seis meses, para evaluar la desaparición y/o atenuación de la cicatriz.

➢ Transcurrido este tiempo se procedió a sacrificar los animales tomando muestra de un centímetro de piel en las zonas donde se produjo inicialmente las lesiones (Fig. 12). Las muestras se procesaron como en el caso anterior.

3.2.5.2 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA, EDEMA INDUCIDO POR XYLENO EN OREJA DE RATÓN:

Se utilizaron ratones Swiss (20-25 g) divididos en lotes de ocho animales; cada ratón recibió como agente flogógeno, 20 μL de xyleno Q.P. por oreja (10 μL en superficie interna y 10 μL en la externa del pabellón auricular); la otra oreja recibió solamente el aceite vegetal como control negativo. La grasa de iguana se aplicó directamente en dosis única de 4 mg/oreja de ratón (4,3 μL/oreja), al mismo tiempo que el inductor de la inflamación, se utilizó diclofenaco (23) y dexametasona a las dosis de 5,0 mg/oreja y 1,0 mg/oreja respectivamente, como fármacos antiinflamatorios estándares. Después de cuatro horas los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, obteniéndose mediante un perforador una porción de seis mm de diámetro de la parte central de ambas orejas. El edema inducido por xyleno fue determinado por el incremento del peso de la oreja derecha respecto al de la izquierda. (24) y (25).

3.2.5.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA:

Se usaron cepas proporcionadas por el Instituto Nacional de Salud, para determinar la posible actividad antimicrobiana de la grasa de Iguana Verde (*Iguana iguana)* frente a bacterias gram positivas y gram negativas. Para la determinación se utilizó el método disco-placa cultivo (26), por ser el más conveniente en la evaluación de la actividad antimicrobiana, debido a que es práctico, seguro y emplea poca cantidad de muestra. Se ensayó frente a las siguientes cepas (27):

Bacillus subtilis ATCC 6633
Staphylococcus aureus ATCC 25923
Escherichia coli ATCC 11313
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228
Salmonella cholerae ATCC 25923

3.2.5.4 PRUEBA DE SENSIBILIDAD CUTÁNEA Y REACTIVIDAD AGUDA EN CONEJOS (Método de Finklestein modificado) (28):

Fundamento:

La prueba mide la irritabilidad aditiva producida por una sustancia de prueba y un irritante primario (formaldehído). Un colorante vital es inyectado por vía endovenosa, donde se une a las proteínas circulantes y es extravasado en la piel inflamada y/o irritada por la acción de la sustancia de prueba. Como control positivo se emplea etanol absoluto y como control negativo se emplea aceite vegetal.

Procedimiento:

Previo al ensayo, los 2 conejos hembras, de doce semanas de edad y de peso promedio 1,5 kg, se mantuvieron en aclimatación con agua y comida ad libitum con una temperatura de 22 ± 1º C y humedad 50± 5% (29). Veinticuatro horas antes del experimento, se depiló cuidadosamente el lomo de dos conejos teniendo cuidado de evitar que se erosionara la piel y con un lápiz de cera se demarcó en el lomo seis áreas de 2,5 cm de diámetro (Fig. 13). Con ayuda de una torunda de algodón se aplicó en cada área 0,1 mL de solución de formaldehído al 10% y se dejó secar por evaporación (se repitió el procedimiento tres veces sucesivas).



Fig 13. Conejo preparado para el ensayo

Los parches oclusivos se impregnaron con la muestra problema y/o controles (positivo y negativo), y se colocaron en las áreas pretratadas con solución de formaldehído. Se colocaron dos parches por cada muestra a evaluar.

Toda el área del lomo fue inmovilizada con la ayuda de una gasa a manera de faja. Inmediatamente después se inyectó 1,5 mL de la solución de azul de Evans al 1% por vía endovenosa.

La evolución de las lesiones se evaluaron a las 1, 6, 9 y 24 horas, después de inyectado el colorante.

Evaluación

El control positivo, desarrolla una mancha de color azul intenso (100%).

El control negativo no desarrolla mancha coloreada (0%).

Para la evaluación se determina comparativamente con el control positivo, una escala semicuantitativa basada en la intensidad de color desarrollada en el área tratada (30).

TABLA 1

ESCALA SEMICUANTITATIVA PARA EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD CUTÁNEA

Puntaje	Efecto
-	No irritante
+	Irritante leve
++	Irritante moderado
+++	Irritante
++++	Fuertemente irritante

3.2.5.5 TOXICIDAD LETAL MEDIA (DL50):

Se trabajó con 40 ratones albinos Swiss, los cuales fueron divididos en 8 grupos de 5 animales cada uno, en sendas jaulas de aluminio especialmente acondicionada para ratones, a los cuales se les proporcionó alimento balanceado y agua en bebederos especiales y fueron acondicionadas 48 horas antes en el Bioterio del Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres. Antes de proceder a realizar el experimento, se les dejó en ayunas desde las 5 de la tarde del día anterior a la prueba hasta las 8 de la mañana del día siguiente que se procedió a llevar a cabo el experimento. Los animales fueron pesados y marcados, se realizaron los cálculos de volumen de administración de acuerdo a la dosis respectiva teniendo en cuenta el peso del animal y por último se les administró la sustancia por vía intragástrica con la ayuda de una sonda metálica especial para ratones (31).

3.3. ENSAYO CLÍNICO PRELIMINAR OBSERVADO EN UNA LAS PACIENTES TRATADAS

Una paciente del servicio de cirugía del Hospital Nacional Arzobispo Loayza de la ciudad de Lima – Perú, al tomar conocimiento de esta investigación, nos solicitó

la grasa de iguana para aplicarse voluntariamente en una cicatriz que tenía como consecuencia de una segunda intervención quirúrgica en la mama izquierda producto de un mismo diagnóstico: fibroadenoma mamario (nódulos sólidos).

En la entrevista nos informó que era nulípara y que el fibroadenoma que se le extirpó junto a tejido mamario adyacente había sido benigno y que dicha cicatriz afectaba profundamente su autoestima. Informada del rigor científico de la investigación, se le solicitó que mensualmente nos proporcionara fotos tomadas con la misma cámara y a una misma distancia para evaluar visualmente el progreso del tratamiento.

Con el propósito de atenuar y/o borrar la mencionada cicatriz la paciente se administró diariamente la grasa de iguana antes de dormir durante ocho meses. Previo aseo de la zona con agua y jabón, seguida de desinfección con alcohol medicinal (70º), se procedió a la aplicación en forma lineal (en dirección de la cicatriz) en suave fricción por espacio de 3-5 minutos, se cubrió el área con gasa estéril y se mantuvo así durante toda la noche. Al día siguiente, se retiró la gasa sin practicarse ningún tipo de aseo, conduciéndose como habitualmente lo hacía, antes del tratamiento. A continuación, se expone los resultados observados en una de las pacientes tratadas:

Sexo: Mujer
Edad: 21 años
Peso: 53 Kg
Talla: 1,60 m
Diagnóstico: Fibroadenoma
Fecha de 1ª operación: 25 de Agosto de 1998
Fecha de 2ª operación: 12 de Marzo del 2005
Tamaño de la cicatriz: 2,5 cm.
Cantidad aplicada por vez: 0,5 mL
Forma de aplicación: Lineal (en dirección a la cicatriz)
Inicio del tratamiento: 05 de mayo del 2005
Término del tratamiento: 05 de enero del 2006

IV. RESULTADOS

Luego del estudio físico químico, microbiológico y farmacológico de la grasa de iguana, se obtuvieron los siguientes resultados:

4.1 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LA GRASA DE IGUANA



Fig 14. Grasa de iguana

Con el objeto de conocer la composición química y bioquímica de la grasa de Iguana Verde (Fig 14), se efectuó las determinaciones propias de un análisis fisicoquímico cuyos resultados se reportan en el Protocolo de Análisis siguiente:

TABLA 2

PROTOCOLO DE ANÁLISIS DE LA GRASA DE IGUANA VERDE

PRODUCTO	:	Grasa de Iguana Verde ***(Iguana iguana)***
CANTIDAD	:	75 g
FECHA DE EXTRACCIÓN	:	Abril de 2005
FECHA DE ANÁLISIS	:	Abril del 2005

DETERMINACIONES	**RESULTADOS**
A) FÍSICAS:	
ASPECTO	Líquido oleoso, libre de partículas extrañas
COLOR	Amarillo
SABOR	Insípido
OLOR	Sui géneris.
pH (25 ºC)	7,1
HUMEDAD	0,4711 %
DENSIDAD (30ºC)	0,9147
COEFICIENTE DE SOLUBILIDAD	
ACETONA	47,37 %
ALCOHOL ISOPROPÍLICO	69,77 %
DICLOROMETANO	71,36 %
CLOROFORMO	69,59 %
ETER ETÍLICO	58,33 %
METANOL	93,94 %
n – HEXANO	49,51 %
B) QUÍMICAS:	
INDICE DE REFRACCIÓN	1,460 %
INDICE DE SAPONIFICACIÓN	195,12 %
INDICE DE PERÓXIDO	0.000 %
INDICE DE YODO	61,73 %
ACIDEZ (expresado en ácido oleico)	0,21 %
CENIZAS TOTALES	No presenta
GRASAS TOTALES	80,3976 %
COBRE (ppm)	0,000
ESTAÑO (ppm)	0,000
FÓSFORO (ppm)	0,000
PLOMO (ppm)	0,000
SILICIO (ppm)	0,000
FIERRO (ppm)	1,000
ALUMINIO (ppm)	2,000
CROMO (ppm)	2,000
C) BIOQUÍMICAS:	
PROTEÍNAS TOTALES	12,000 %
ÚREA	0,05 %
ALBUMINA	6,4 %
COLESTEROL	Negativo
HDL COLESTEROL	Negativo
LDL COLESTEROL	Negativo
VLDL COLESTEROL	Negativo

TABLA 3
ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

PRODUCTO : GRASA DE IGUANA VERDE (*Iguana iguana*)

DETERMINACIÓN : ÁCIDOS GRASOS

FECHA : 26 - 10 - 2005

MÉTODO USADO : AOCS Official Method Ce 1b-89, Fifth Edition 1997 Fatty Acid Composition by GLC

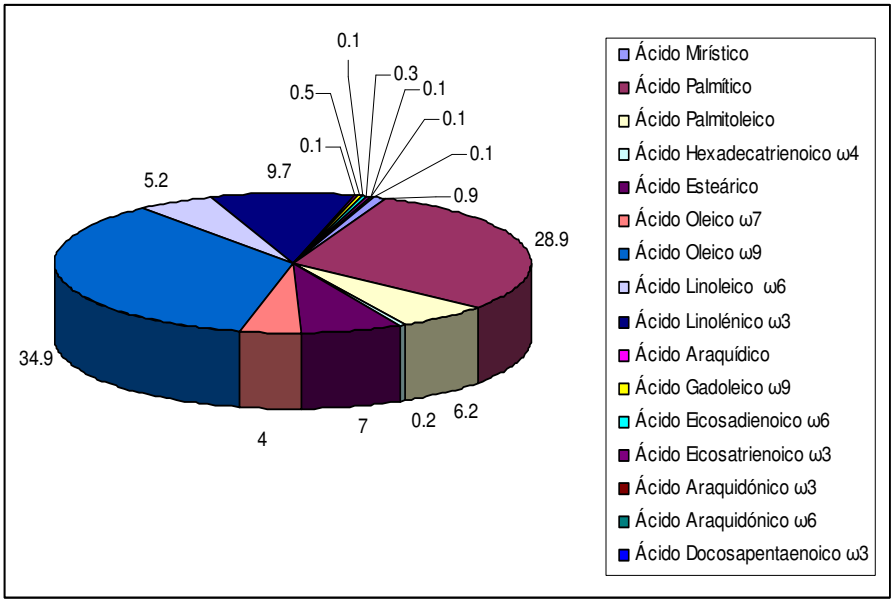
ÁCIDOS GRASOS	C n:m	%
Ácido Mirístico	(14:0)	0,9
Ácido Palmítico	(16:0)	28,9
Ácido Palmitoleico	(16:1)	6,2
Ácido Hexadecatrienoico ω_4	(16:3)	0,2
Ácido Esteárico	(18:0)	7,0
Ácido Oleico ω_7	(18:1)	4,0
Ácido Oleico ω_9	(18:1)	34,9
Ácido Linoleico ω_6	(18:2)	5,2
Ácido Linolénico ω_3	(18:3)	9,7
Ácido Araquídico	(20:0)	0,1
Ácido Gadoleico ω_9	(20:1)	0,5
Ácido Eicosadienoico ω_6	(20:2)	0,1
Ácido Eicosatrienoico ω_3	(20:3)	0,3
Ácido Araquidónico ω_3	(20:4)	0,1
Ácido Araquidónico ω_6	(20:4)	0,1
Ácido Docosapentaenoico ω_3	(20:5)	0,1
RESUMEN		
Saturados		36,90 %
Monoinsaturados		45,60 %
Poliinsaturados		15,80 %
Total de Ácidos Grasos Identificados		98,30 %
No Identificado		1,70 %
Total		100,00 %

n = Número de carbonos
m = Número de enlaces
ω = Omega

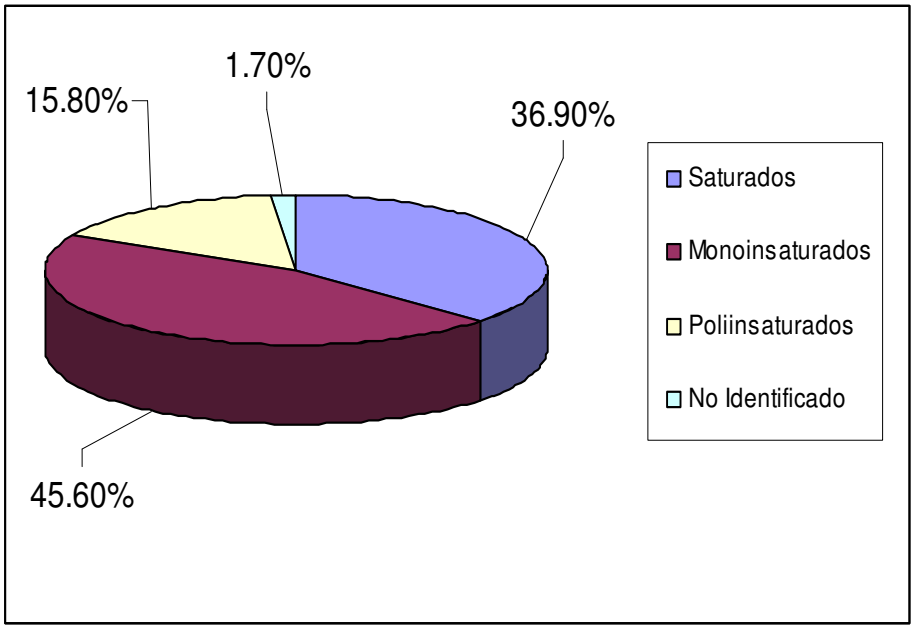
OBSERVACIONES: OMEGA 3 TOTAL : 10,2 %

OMEGA 6 TOTAL : 5,4 %

GRÁFICA 1
ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS



GRÁFICA 2
RESUMEN DE ÁCIDOS GRASOS

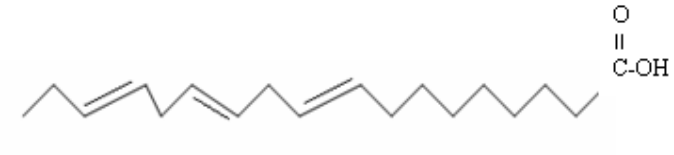


GRÁFICA DE OMEGAS ENCONTRADOS EN LA GRASA DE IGUANA

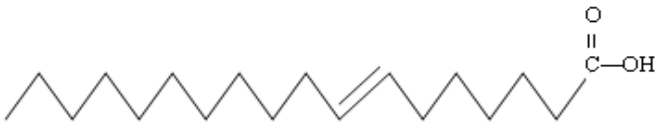
Omega 6: Ácido Linoleico (C 18:2).
Fórmula: $CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$
cis-9,12-octadecadienoico (nombre IUPAC)



Omega 3: Ácido Linolénico (C 18:3).
Fórmula : $CH_3CH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$
cis-9,12,15-octadecatrienoico (nombre IUPAC)



Omega 7: Ácido Oleico (C 18:1),
Fórmula: $CH_3(CH_2)_9CH=CH(CH_2)_5COOH$
cis-7-octadecenoico (nombre IUPAC)



Omega 9: Ácido Oleico (C 18:1)
Fórmula: $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$
cis-9-octadecenoico (nombre IUPAC)



4.2 ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LA GRASA DE IGUANA VERDE

1. Identificación en el Infrarrojo

Se adjunta en el ***Reporte Nº 1***

TABLA 4

SEÑALES (PICOS) DEL ESPECTOGRAMA REALIZADO

υ (cm^{-1})	***Grupos Funcionales***	
2921,8627	corresponde a la señal: C-H longitudinal en:	$-CH_3$
2852,8735	corresponde a la señal: C-H longitudinal en:	$-CH_{2-}$
1743,7433	corresponde a la señal: C=O longitudinal en:	ésteres
1464,0985	corresponde a la señal: C-H en:	$-CH_{2-}$

2. Identificación en el Espectro UV-Visible

$\lambda_{Máx}^{MeOH}$ = 270 nm Se adjunta en el ***Reporte Nº2***

3. Ensayo de Vitamina E por HPLC

El ensayo de vitamina E por HPLC, concluyó que la grasa de iguana no contiene vitamina E, debido a que comparada con un estandar secundario de vitamina E 50%, no dió señal en los tiempos de retención caracteristico de vitamina E que son 3,014 a 3,037 minutos; a pesar que se inyectó 5 veces el primer volumen de 20 µL y 2 veces a 100 µL ***(Reporte Nº 3, 4, 5).***

4. Ensayo de Vitamina A (USP 28)

Se ensayó Vitamina A por la técnica de la USP 28. Se escaneó en el rango UV y se observó que NO PRESENTA PICO A 325 nm. QUE CARACTERIZA A LA VITAMINA A, por lo que se concluye, que la grasa de iguana no contiene vitamina A. ***(Reporte Nº 6)***

5. Identificación y cuantificación de ácidos grasos

Un análisis de composición de ácidos grasos realizado por Cromatografia gas-líquida en columna mostró los siguientes ácidos: mirístico (0,9 %), palmítico

(28,9%), palmitoleico (6,2%), hexadecatrienoico ω_4 (0,2%), esteárico (7,0%), oleico ω_7 (4,0%), oleico ω_9 (34,9%), linoleico ω_6 (5,2%), linolénico ω_3 (9,7%), araquídico (0,1%), gadoleico ω_9 (0,5%), eicosadienoico ω_6 (0,1%), eicosatrienoico ω_3 (0,3%), araquidónico ω_3 (0,1%), araquidónico ω_6 (0,1%), docosapentaenoico ω_3 (0,1%) ***(Reporte Nº 7 y 8).***

4.3 EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA

La evaluación farmacológica comprendió la actividad cicatrizante, antiinflamatoria, antibacteriana, sensibilidad cutánea - reactividad aguda y toxicidad letal media.

4.3.1. ACTIVIDAD CICATRIZANTE:

Como se observa en la Tabla 5 y gráfica 3, el cierre de las heridas del grupo problema (aquellos tratados con grasa de iguana), a pesar de que comenzaron a cerrar dos días después que los grupos controles, cerraron totalmente un día antes que el grupo II (control positivo) y cuatro días antes que el grupo III (control negativo).

TABLA 5

RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS DEL CIERRE DE HERIDAS

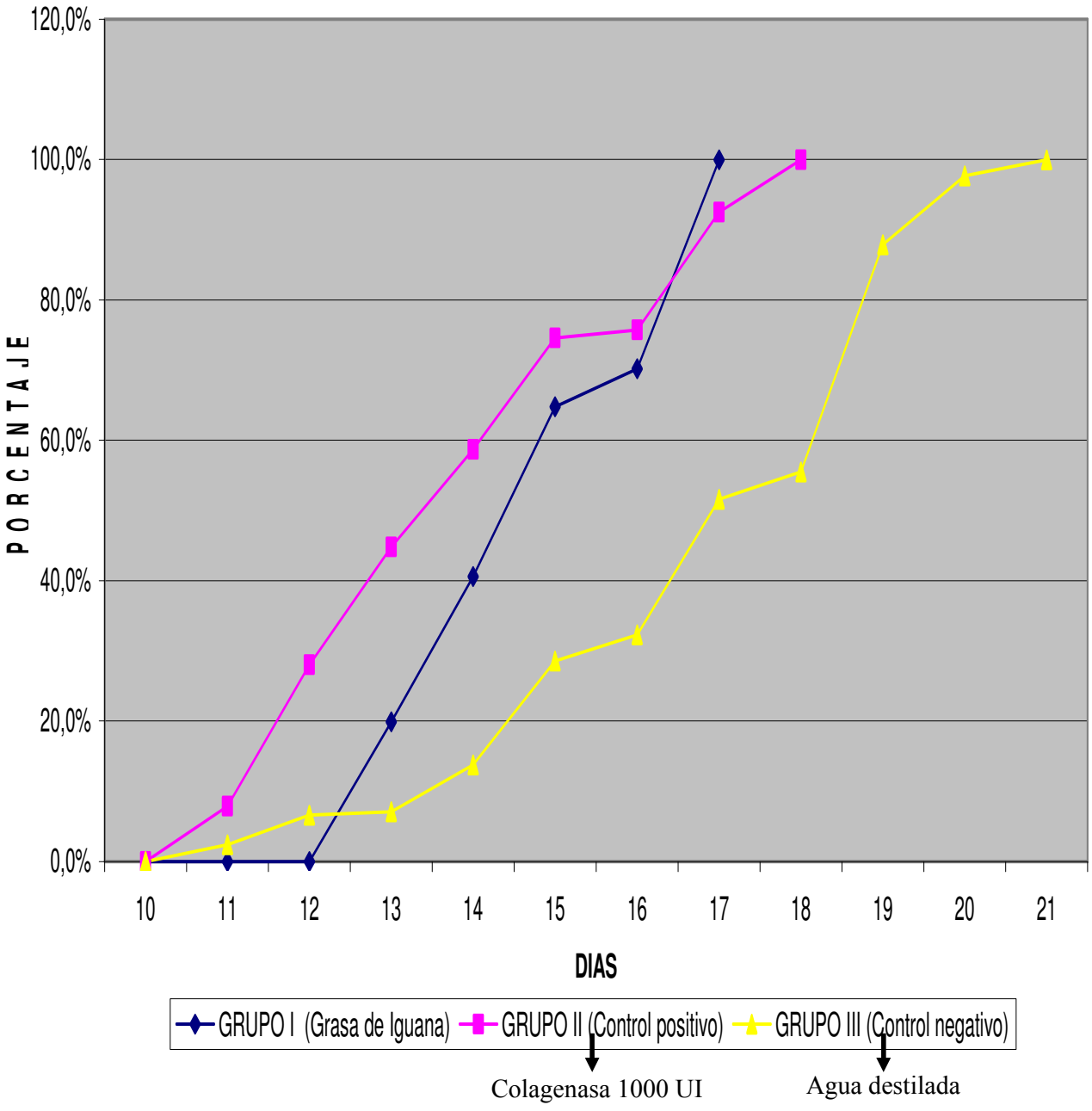
GRUPOS	DÍAS											
	10 (%)	**11** (%)	**12** (%)	**13** (%)	**14** (%)	**15** (%)	**16** (%)	**17** (%)	**18** (%)	**19** (%)	**20** (%)	**21** (%)
I (Grasa de Iguana)	0,0	0,0	0,0	19,9	40,6	64,8	70,2	100				
II (Control positivo)	0,0	7,9	28,0	44,8	58,7	74,6	75,7	92,5	100			
III (Control negativo-1)	0,0	2,4	6,6	7,1	13,8	28,6	32,3	51,6	55,5	87,9	97,7	100

NOTA.- El grupo IV (control negativo 2) no se tomó en cuenta en estas observaciones y sirvieron para evaluar la desaparición y/o atenuación de cicatriz.

Gráfica 3

:

RESULTADO OBTENIDO DE LAS OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS DE LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS



Luego del estudio histopatológico, estos son los resultados que se han obtenido:

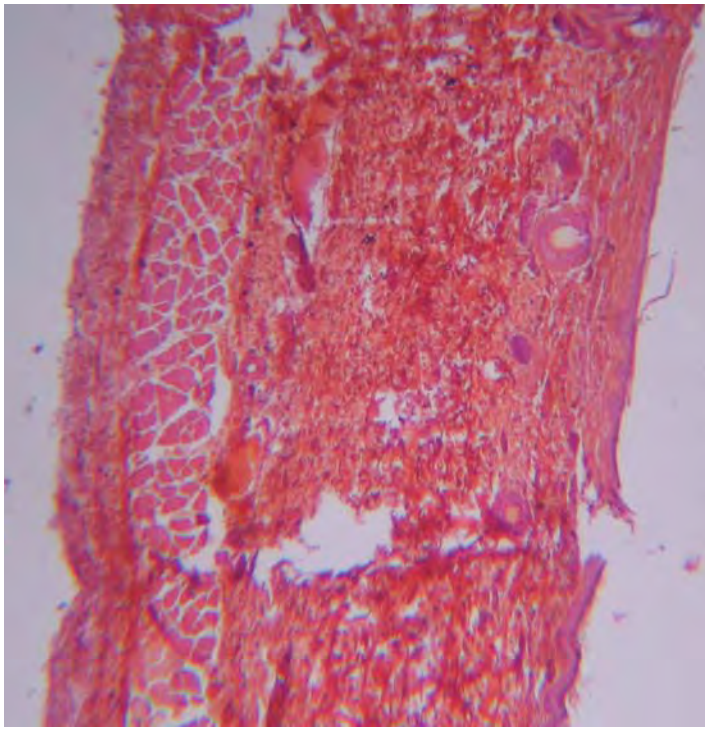


Fig 15. Piel con incisión lineal sin tratamiento
Edema y fibrosis moderada a nivel del corte, pérdida de continuidad del estroma o corion fibro-conjuntivo. Edema +/+++ leve.

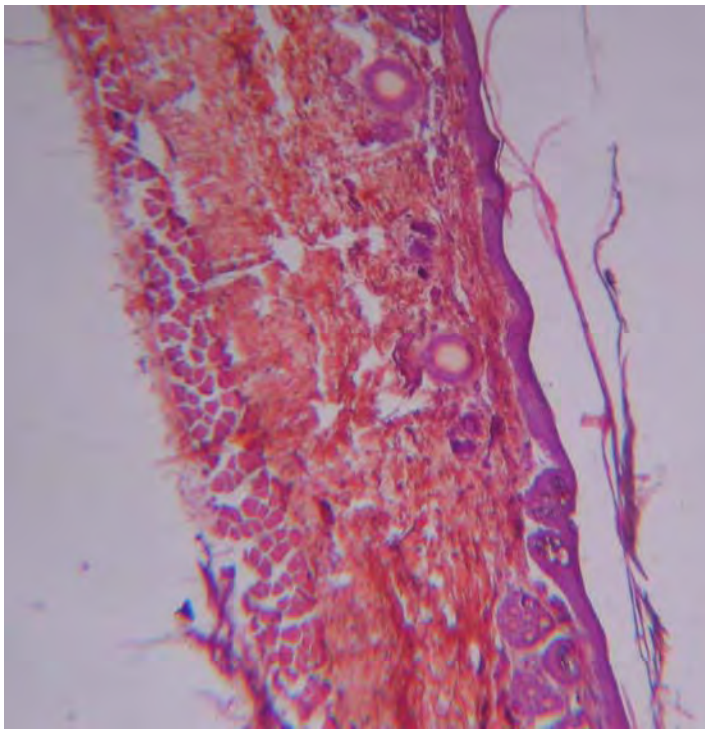


Fig 16. Piel con incisión lineal tratada con grasa de iguana.
Severo desprendimiento de la capa córnea, edema difuso de la capa glandular, anexial, estroma fibro-conjuntivo, muscular y moderada presencia de células inflamatorias.

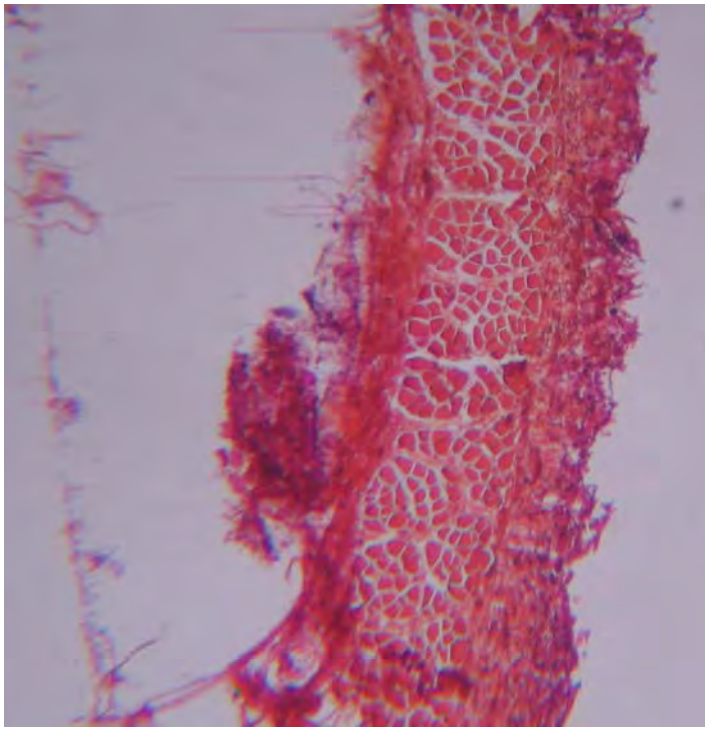


Fig 17. Piel con lesión "Sacabocado" sin tratamiento

Excoriación leve epitelial. Glándulas y anexos de la piel casi ausentes, Edema ++/+++. Células inflamatorias ++/+++ difuso. Leve necrosis sub-epitelial. Edema difuso moderado. Moderada afectación del estroma o corion fibro-conjuntivo y muscular.

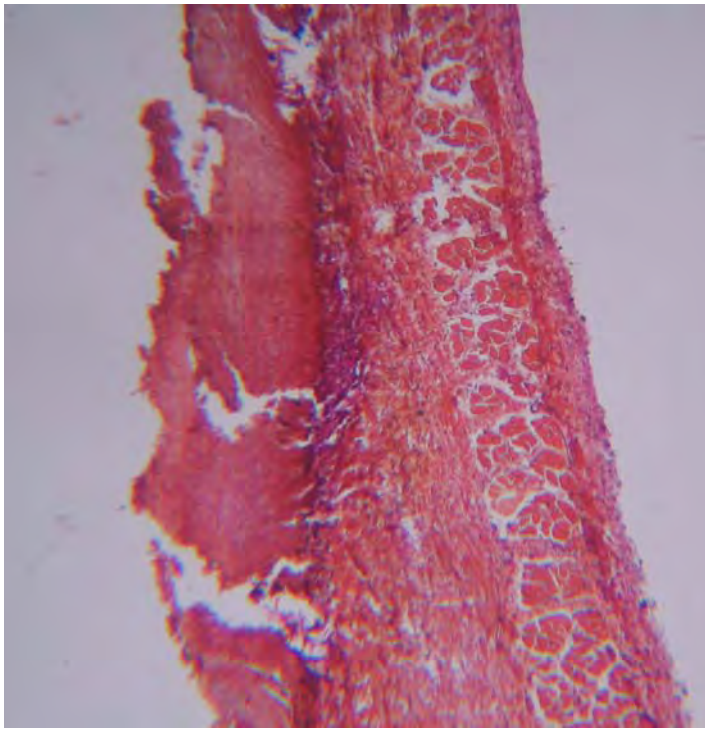


Fig 18. Piel con lesión "Sacabocado" tratada con grasa de iguana

Hiperplasia severa de la capa córnea. Edema leve difuso. Células inflamatorias ++/+++ difuso sub-epitelial. Afectación leve del estroma fibro-conjuntivo y muscular.

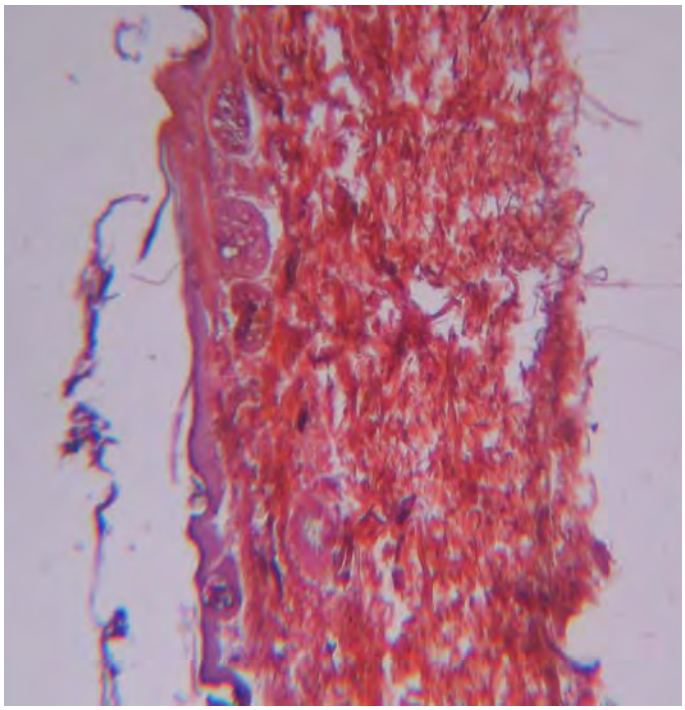


Fig 19. Piel con quemadura sin tratamiento

Desprendimiento severo del epitelio córneo. Presencia normal de anexos. Presencia de células inflamtorias +/+++. Edema severo. Moderada destrucción del estroma o corion fibro-conjuntivo y muscular. Necrosis moderada multi-focal ++/+++.

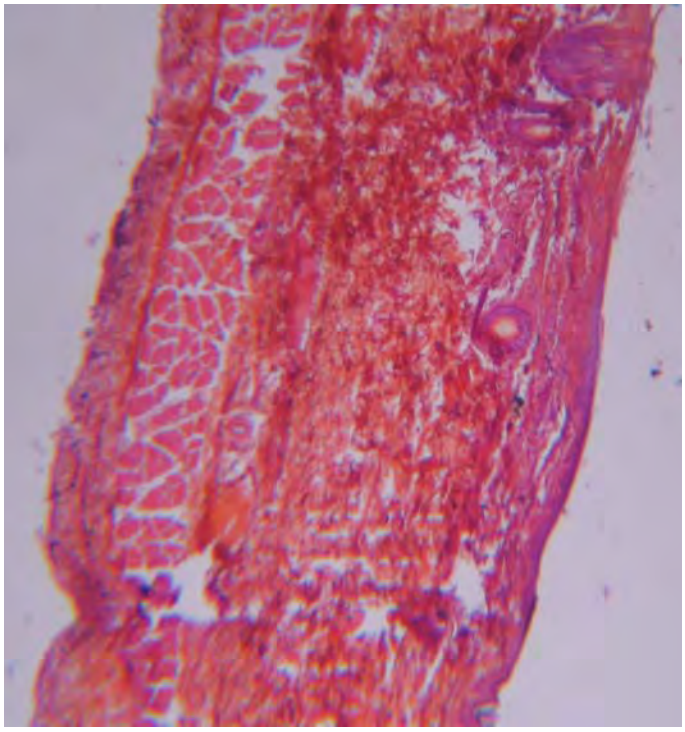


Fig 20. Piel con quemadura tratada con grasa de iguana

Lesión del epitelio, sub-epitelio, corion fibro-conjuntivo y muscular, presencia de glándulas y folículos pilosos con edema moderado difuso. Moderada inflamación ++/+++. Leve afectación del corion o estroma fibro-conjuntivo y muscular.

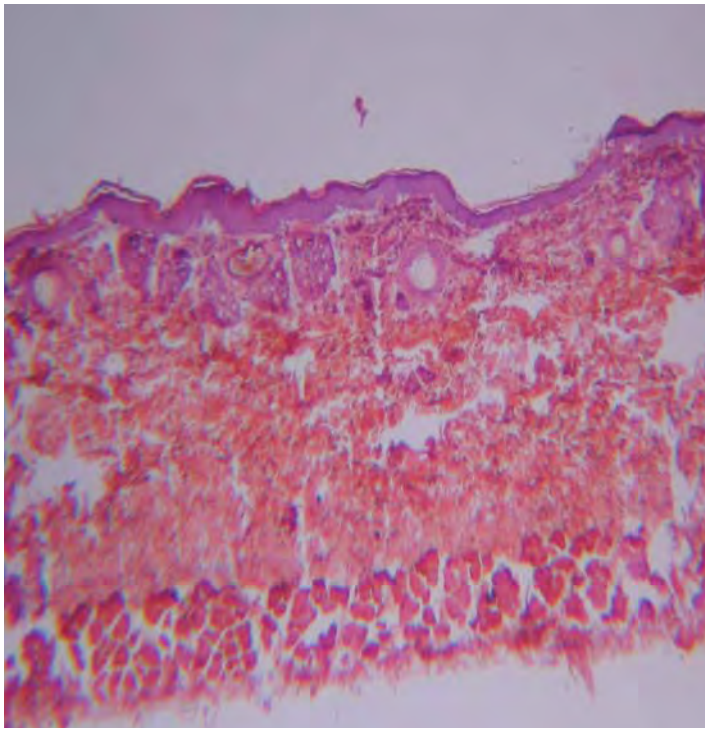


Fig 21. Piel sana sin tratamiento

Epitelio poli-estratificado plano queratinizado. Capa conjuntiva sub-epitelial. Capa glandular, capa fibro-conjuntiva, capa muscular sin alteraciones. Edema leve difuso.

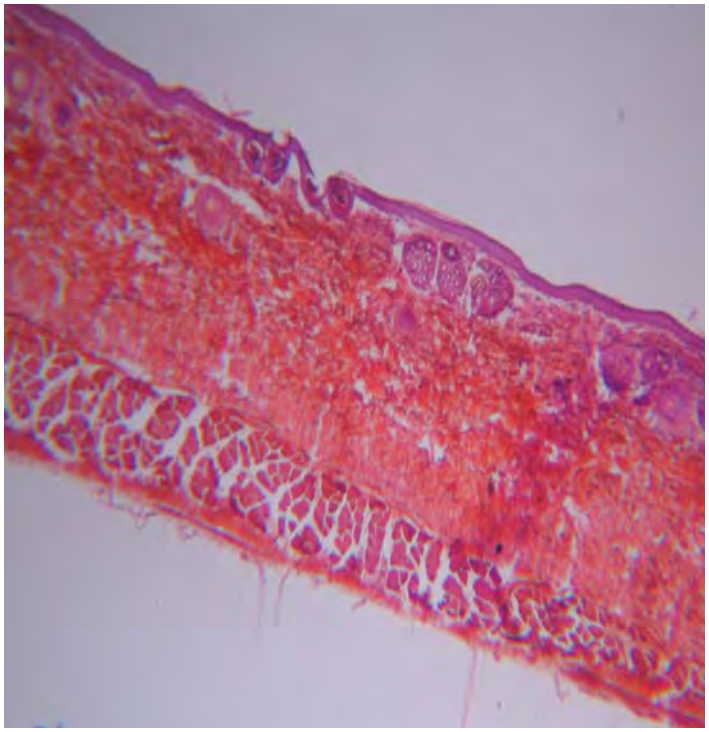


Fig 22. Piel con cicatriz lineal envejecida, tratada con grasa de iguana.

Epitelio sin alteración. Componente glandular. Fibro-conjuntivo y muscular no presentan alteración.

4.3.2 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA:

Análisis de varianza:

Inflamación Residual (IR):

Se expresa en porcentaje y es la inflamación final que subsiste después de administrar los tratamientos (sustancia problema y estándar), a un proceso inflamatorio inducido.

$$\%\,I\,R = \frac{I\,F - B}{B} \times 100$$

Donde:

IR: Inflamación Residual

IF: Inflamación Final

B : Basal

Eficacia Antiinflamatoria (EA):

Se define como la acción que contrarresta la inflamación producida por el agente inflamatorio (xyleno). Matemáticamente se expresa:

$$X = \frac{B / Bo \; - \; V / \; Vo}{B / Bo} \times 100$$

Donde:

B / B_o: Es el incremento de volumen del blanco debido a la inflamación, referido al volumen inicial B_o del mismo.

V / V_o: Es el incremento estandarizado de volumen inflamado, pero tratado con un agente antiinflamatorio.

X : Es la disminución del volumen causado por la inflamación.

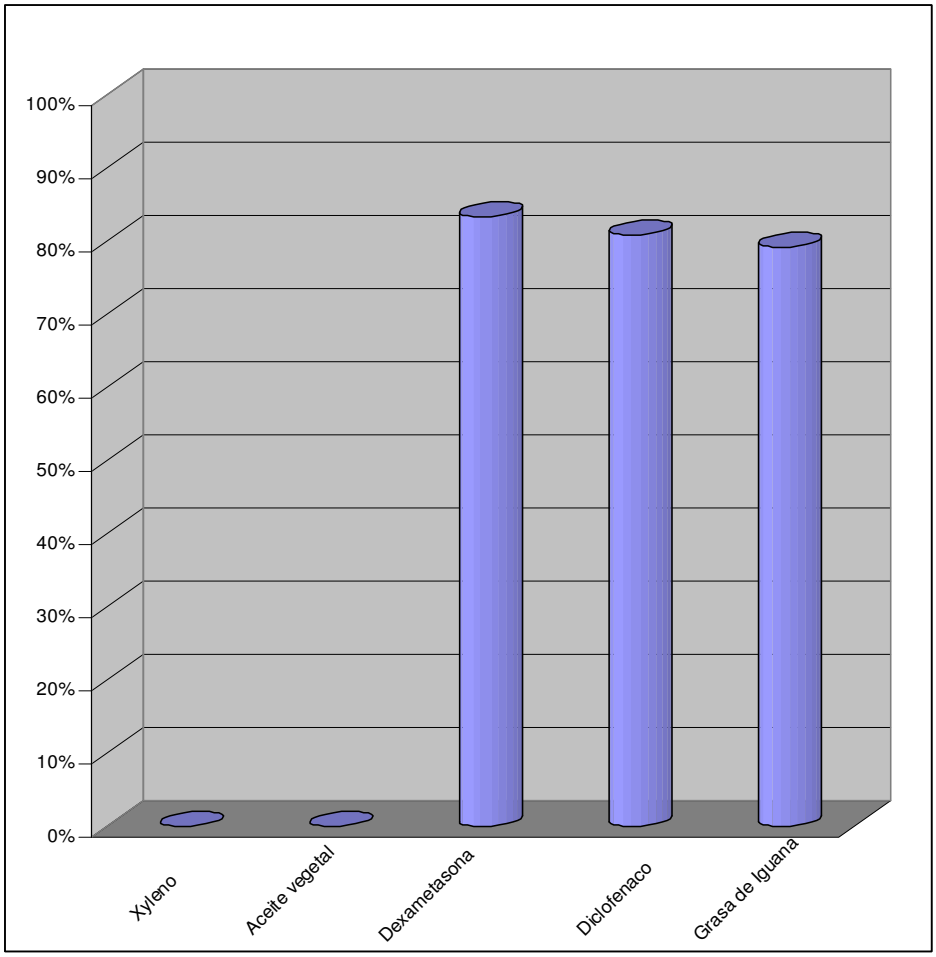
TABLA 6
Valores medios de los pesos de la porción seccionada (6mm) de la oreja de los ratones

GRUPOS	Peso del tejido (g) MED ± DE	Índice de Inhibición del edema (%)
Xyleno	0,0235 ± 0,0022	----
Aceite vegetal	0,0012 ± 0,00040	----
Dexametasona	0,0039 ± 0,00073	83,40
Diclofenaco	0,0045 ± 0,00052	80,85
Grasa de iguana	0,0049 ± 0,00061	79,14

De acuerdo en la Tabla 6, nótese una disminución significativa de la inflamación a causa de la grasa de iguana comparada con fármacos antiinflamatorios estándares (32).

Gráfica 4

ÍNDICE DE INHIBICIÓN DEL EDEMA (%)



4.3.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA:

La Tabla 7 muestra los halos inhibición obtenidos, los mismos como se aprecian son muy pequeños.

TABLA 7

Actividad Antibacteriana de la Grasa de Iguana Verde

CEPA ENSAYADA	REFERENCIA	HALO DE INHIBICIÓN (mm)
Bacillus subtilis	ATCC 6633	**2**
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	**2**
Escherichia coli	ATCC 11313	**3**
Staphylococcus epidermidis	ATCC14028	**2**
Salmonella cholerae	ATCC12228	**1**

4.3.4 PRUEBA DE SENSIBILIDAD CUTÁNEA Y REACTIVIDAD AGUDA EN CONEJOS

Durante la evaluación, no se observaron cambios ni alteraciones en la piel del animal evaluado y de acuerdo con la Tabla 1 de la escala semicuantitativa para la evaluación de la prueba de sensibilidad cutánea (29), el siguiente es el resultado:

TABLA 8
EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD CUTÁNEA

SUSTANCIA DE PRUEBA	EVALUACIÓN (Horas)	PUNTAJE	CLASIFICACIÓN
Grasa de iguana	1	-	No irritante
	6	-	No irritante
	9	-	No irritante
	24	-	No irritante



Fig 23. Conejo con parches oclusivos

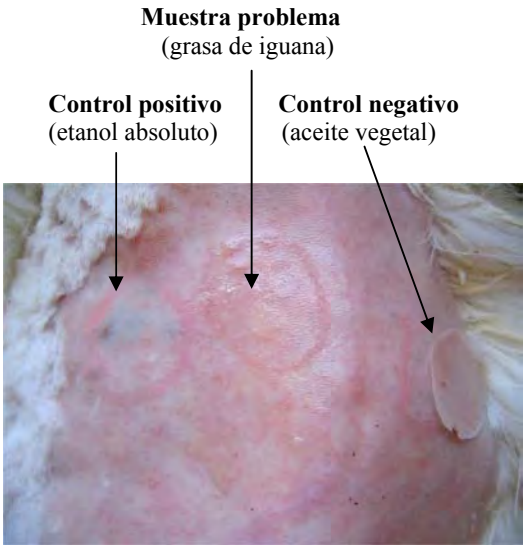


Fig 24. Conejo desarrollando mancha azul a partir de las 6 horas.

4.3.5 TOXICIDAD LETAL MEDIA (DL_{50})

El ensayo de DL50 (Tabla 9), reporta gran inocuidad ya que según se observa, a pesar de haber administrado grasa de iguana a una dosis de hasta 3,5 mL/20 g equivalente a 175 mL / kg (**de acuerdo con la densidad hallada 0,9147 g/mL su equivalencia en mg/kg sería 160 000 mg/ kg**),

4.3.6 ENSAYO CLÍNICO PRELIMINAR OBSERVADO EN UNA DE LAS PACIENTES TRATADAS

Los resultados obtenidos aquí son un indicativo de lo que la grasa de iguana en aplicación directa en piel de humanos puede producir.

Durante el tratamiento, la paciente no reportó efectos colaterales ni molestias ocasionadas por alergias, dermatitis de contacto, infección secundaria u otros, evidenciándose una evolución satisfactoria durante el ensayo.

Al término del tratamiento, la paciente ha recuperado parte importante de su autoestima y ha mostrado su entera satisfacción por los resultados obtenidos.

La evaluación del nivel de recuperación del tejido epitelial se muestra en la siguiente figura (Fig 25):

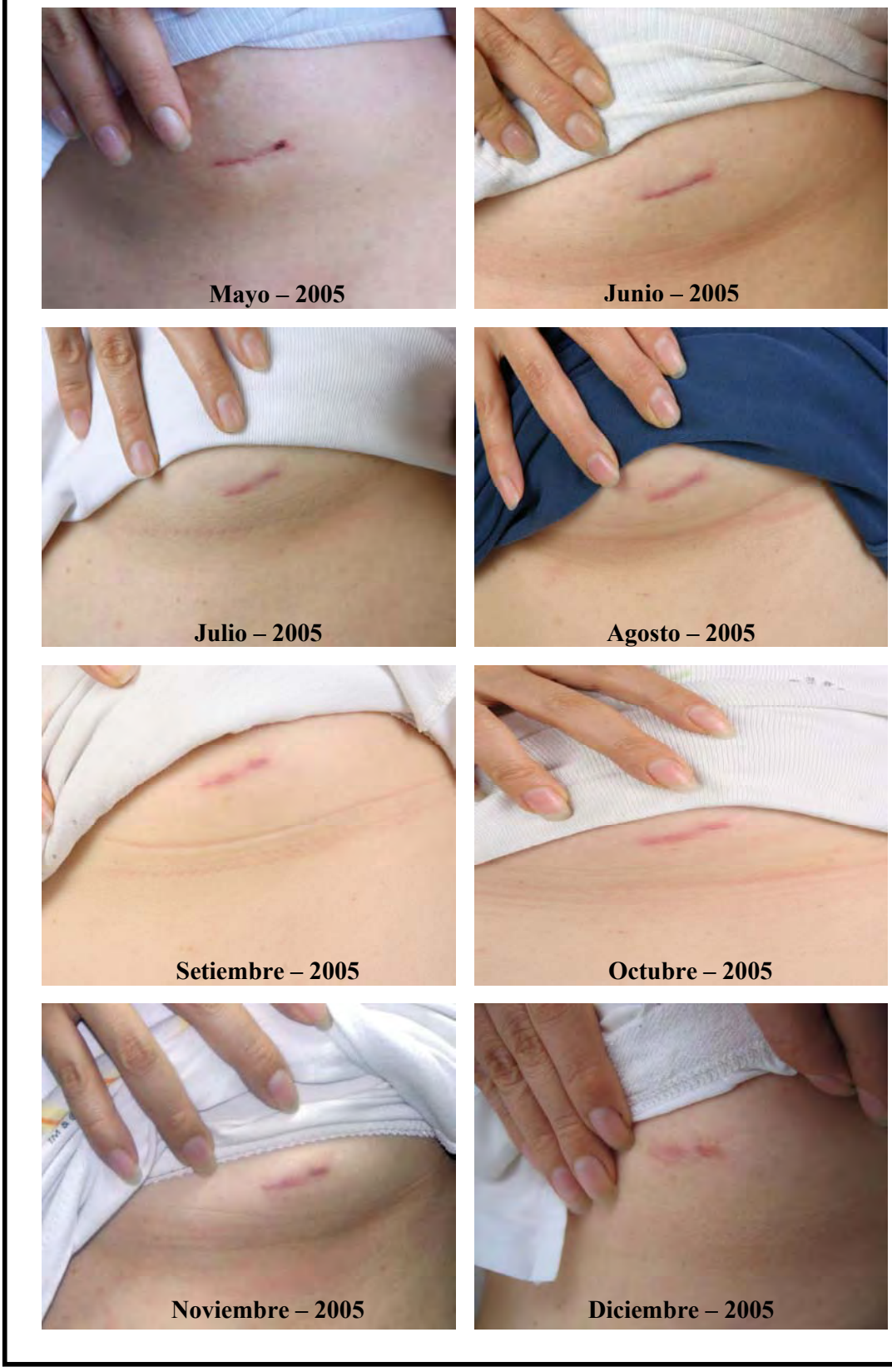


Fig 25. Evolución del borrado y/o atenuación de cicatriz en humano

V DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos demuestran una marcada acción favorable de la grasa de hembras grávidas de iguana en la cicatrización de las heridas (tabla 5 y gráfica 3), las cuales evidenciaron una cicatrización total al 17º día superior al de colagenasa que lo hizo al 18º día y al control negativo que lo hizo recién el 21º día, esto debido quizás a que como sabemos, el proceso de cicatrización se ve favorecido por la presencia de ácidos grasos insaturados (61,4% en la grasa de iguana) los mismos que actúan como inhibidores de los metabolitos del ácido araquidónico (34) y (37). Durante la evaluación diaria, se observó que no hubo alteración en el comportamiento habitual de los animales, ni se evidenció complicaciones en las heridas por la presencia de infección secundaria teniendo el ensayo, en términos generales, una evolución satisfactoria.

Al observar la acción sobre el grosor de la epidermis, las muestras tratadas con grasa de iguana (3,54 micras) se acercan más a los valores de la piel normal (3,66 micras) que al grupo sin tratamiento (11,46 micras) y el de mayor valor al de colagenasa (8,60 micras). Esto demuestra que hubo efectividad en el producto y estabilidad en el período de recuperación de las heridas, además de presentar cicatrización compacta, completamente ocluida, con abundantes vasos neoformados (indicador de una buena actividad cicatrizante) y lo que es más importante: no hay retracción y se respeta la estructura de los tejidos adyacentes. La observación macroscópica de las cicatrices, muestra desaparición y/o atenuación de las cicatrices del grupo sometido al envejecimiento de la cicatriz (Fig 22.)

En el estudio histopatológico de los tejidos se ha obtenido que: en la fig.15 (piel con incisión lineal sin tratamiento), hay respuesta cicatrizal leve de lesión cortante con edema y fibrosis leve; en la fig.16 (piel con incisión lineal tratada con grasa de iguana), hay respuesta cicatrizal moderada; en la fig.17 (piel con lesión “sacabocado” sin tratamiento), hay respuesta cicatrizal leve y pérdida de la capa epitelial; en la fig.18

(piel con lesión “sacabocado” tratada con grasa de iguana), respuesta cicatrizal severa, hiperplasia epitelial formación de queloide y engrosamiento exagerado del epitelio; en la fig.19 (piel con quemadura sin tratamiento), se observa insuficiente respuesta cicatrizal y destrucción difusa tisular; en la fig.20 (piel con quemadura tratada con grasa de iguana), hay respuesta cicatrizal leve; finalmente, en la fig.21 (piel sana sin tratamiento) y en la fig.22 (piel con cicatriz lineal envejecida, tratada con grasa de iguana), no se encuentra respuesta cicatrizal, porque el tejido no tiene lesión.

A la luz de estos resultados se infiere que la grasa de iguana muestra mejores resultados en el tratamiento de heridas lineales, al punto de que se afirma que el tejido no presenta lesión. En cambio, en las heridas ocasionadas por quemadura y “sacabocado” la recuperación de la cicatriz es leve e incluso hay formación de queloides y engrosamiento del epitelio.

En la tabla 6 y gráfica 4, se resume la buena actividad antiinflamatoria demostrada por la grasa de de iguana con un índice de inhibición del edema equivalente al 79,14 % comparado con los estándares antiinflamatorios: Diclofenaco (80,85 %) y Dexametasona (83,40 %). La buena respuesta antiinflamatoria encontrada puede ser debido a la presencia en la grasa de iguana de ácido linoleico ω_6 (5,2%) y ácido linolénico ω_3 (9,7%), ya que está demostrado que las deficiencias de ácidos grasos esenciales induce procesos inflamatorios tanto en ratas como en humanos, los cuales pueden ser revertidos mediante la aplicación cutánea de estos ácidos en diversas formas (34). Estos resultados se corresponden con otros estudios realizados, donde el uso tópico de Omega 3 y Omega 6 han demostrado tener efecto antiinflamatorio, además de disminuir el prurito y eritema en Dermatitis Atópica (35). Asimismo, se ha demostrado que aldehídos de bajo peso molecular, generados por oxidación de ácidos grasos insaturados, toman parte fundamental en la inhibición de reacciones inflamatorias agudas, mediante la inducción de la síntesis de proteínas antiiflamatorias (36). Además, los ácidos grasos tienen importancia en el metabolismo de los eicosanoides cutáneos, ya que ellos pueden ejercer marcados efectos sobre la composición de ácidos grasos de fosfolípidos de la epidermis, así como la liberación del ácido araquidónico y más adelante en la biosíntesis de eicosanos inflamatorios; por lo tanto, la incorporación de otros ácidos grasos en el tejido induce la biosíntesis de metabolitos con efectos

antiiflamatorios potentes o con efectos inflamatorios menores que los que son derivados del ácido araquidónico (37)

En la evaluación de la acción antimicrobiana (tabla 7) se pudo determinar que la grasa de iguana no tiene acción antimicrobiana por lo que se descarta que el proceso de cicatrización se vea favorecido por esta acción.

Fisicoquímicamente (tabla 2,3 y gráfica 1,2), la grasa de iguana demostró tener un alto porcentaje de ácidos grasos (36,9% saturados, 45,6% monoinsaturados y 15,8% poliinsaturados) lo que indica que su composición en ácidos grasos es la característica química más importante de este aceite, así como el porcentaje (0,00 %) de índice de peróxido (38) encontrado.

El análisis de metales pro oxidantes puso en evidencia, que las concentraciones de Fe y Cu necesarias para mantener la estabilidad de aceites con alto contenido de ácido oleico, como es el caso del aceite estudiado, está por debajo de lo que señala las Normas Internacionales para aceites comestibles; se exige que sea menor a 5ppm y en el análisis se halló: 1,00ppm para Fe y 0,00ppm para Cu. Esto quiere decir, que el aceite extraído de la grasa de iguana es un aceite muy estable.

Al tomar conocimiento del uso popular de la grasa de iguana en Piura, respecto a la posibilidad de borrar cicatrices, se pensó inicialmente que, ésta dada la alimentación de las iguanas (hojas, flores y frutos) podría deberse a un cierto contenido de Vitamina A y Vitamina E que como se sabe son mucosecretante-queratinizante y antioxidante, respectivamente (15). Sometido la grasa de iguana al análisis instrumental por HPLC, se descartó esta hipótesis debido a que los resultados fueron negativos para ambas vitaminas.

Al evaluar la toxicidad de la grasa de iguana (tabla 9) se halló un DL50 por encima de 160 000 mg/kg en ratones, lo que se según la escala de Williams y Burson (33), indica que es inocua, al no haber producido ningún tipo de problema en los animales de experimentación en comparación con el grupo control hasta las 48 horas. (Tabla 9)

El estudio de la Prueba de Sensibilidad Cutánea y Reactividad Aguda (tabla 8) llevado a cabo con la grasa de iguana en conejos, brindó información de su NO IRRITABILIDAD, lo que permite afirmar que la grasa de iguana, puede ser empleada tópicamente sin riesgo de producir reacciones alérgicas.

Finalmente, en el estudio clínico preliminar observado en una de las pacientes tratadas procedente del Hospital Arzobispo Loayza, se observó una recuperación perceptible de la cicatriz (Fig 25), no manifestándose durante el ensayo manifestaciones de infección, prurito, ni alergias en el sitio de aplicación.

De lo dicho se infiere, que la grasa de hembras grávidas de iguana contiene un aceite que resulta ser inocuo, no irritante y totalmente estable. Tiene propiedades antiinflamatorias, favorece el proceso de cicatrización además de atenuar y/o borrar cicatrices.

VI CONCLUSIONES

1. La grasa de Iguana Verde (*Iguana iguana)* en administración tópica a dosis de 0,55mL/kg de peso, demostró influir favorablemente sobre la cicatrización de las heridas.

2. También evidenció tener un buen efecto antiinflamatorio; además de mostrar claras evidencias de atenuar y/o borrar cicatrices sobre lesiones inducidas en ratas.

3. La calidad de la cicatriz obtenida luego del tratamiento con grasa de iguana, demuestra que podría ser de gran utilidad en cirugía plástica donde la preocupación principal es obtener cada vez mejores resultados en regeneración y epitelización de heridas y mejor aún, si luego de formadas éstas se atenúan o desaparecen.

VII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.- **Flores N.** Programa de manejo integral reserva del hombre y la biósfera del río Plátano.Tegucigalpa, Honduras.1999.

2.- **Flores N.** Programa de restauración de la Iguana Verde (*Iguana iguana*) en Honduras. Tegucigalpa, MDC. Marzo 1999

3.- **Miller J.** Artificial incubation of eggs of the green iguana (*Iguana iguana)*. Zoobiology 1987; (6): 225-236.

4.- **Wermer D y Rey D**. Manejo de la iguana verde: La biología de la iguana verde. Instituto de investigaciones Tropicales Smlthsonian. Balboa, República de Panamá. Tomo I. 1987. p.41.

5.- **Alvarado D, Ibarra J, Suazo L, Rodríguez I, Zamora R**. Reproductive characteristics of a green iguana (*Iguana iguana*) population of the west coast of Mexico. *The Southwestern Naturalis. 1995.* 40(2):234-237

6.- **Barten S.** The medical care of iguanas and other common pet lizards. In: Veterinary clinic of North American: smalls animals practice. Vol 23, Nº 6 (1993)

7.- **Kramer J.** Relaciones hídricas de suelos y plantas: una síntesis moderna. ed. Harla, México DF. 1989. p.538.

8.- **Cruz R y Teahulos T.** Notas del manejo de iguanas en cautiverio durante la etapa reproductiva en el estado de Oaxaca. In: Memorias del XII Simposio sobre Fauna Silvestre "Gral. M.V.Z. Manuel Cabrera V.". UNAM-Gob. Del Edo. de Méx., Com. Estatal de Parques Nacionales y de la fauna. Toluca, Estado de México. 1994.

9.- **Villegas Z.** Evaluación de la incubación de huevos de iguana verde *(Iguana iguana)* Tesis profesional, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México DF. 1997. p.51.

10.- **Garza C, Vogt R.** Algunos aspectos de la iguana verde (*Iguana iguana*) en cautiverio en la región de los Tuxtla, Veracruz. In: Resúmenes de la III. Reunión

Nacional de Herpetología, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México DF.1994.p. 66.

11.- **Argueta V.** Programa experimental de manejo, conservación y utilización racional del recurso iguana en el corredor costero Puerto Ángel Huatulco, Oaxaca. UMAR. Informe técnico. 1996. p. 18.

12.- **Flores N.** Utilización de la fauna silvestre en la Reserva de la Biósfera de río Plátano, La Mosquitia [Monografía] Tegucigalpa: UNAH; 1994.

13.- **Sancho P.** Aspectos terapéuticos de los ácidos grasos poliinsaturados, aplicaciones en dermatología. Clínica veterinaria de pequeños animales 2001; 21(1) p.6-9.

14.- **Domínguez S, Acosta U y Cuello D.** Efecto cicatrizante de extracto fluido de hojas de Siempreviva. Revista Cubana de Plantas Medicinales 2001; 1:16-18.

15.- **Canavese R, Sousa R, Blessa É, Iwabe S y Crocci A.** Pomada orgânica natural ou solução salina isotônica no tartamienmto de feridas limpas induzidas em ratos. Ciencia Rural Santa María 2001; 31(6): 1007-1011.

16.- **Guillermo R.** Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutllaefolia R.* et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. [Tesis profesional de Químico Farmacéutico] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002.

17.- **Martínez-García G, Tito M y Bermúdez A.** Efecto cicatrizante del extracto fluido de Romerillo (*Bidens alba Linné*). Medicentro 2003; 7(4):14-19.

18.- **Coks L, Rede V.** Laboratory Handbook for Oil and fat Analysis Academic Press. London. N.Y. 1986.

19.- **Association of Official and Analytical Chemest´s Society (AOAC).** Standards Methods of Analysis.14 edition. Washington D.C. 1990.

20.- **Triebold H, Aurand L.** Food Composition and Analysis. Edit D Van Nost Company Inc. Princeton N.Y. 1983.

21.- **AOCS** Official Method Ce 1b-89.Fatty Acid Composition by GCL. Edition 1997.

22.- **Sánchez A. Díaz P**. Acción del aceite ozonizado sobre la cicatrización de heridas de piel en animales de experimentación. Revistas de Ciencias Químicas. 1998: 29(3).

23.- **Edmond k, Warren L, Himanshu K, Dietrich S.** Effect of Diclofenac Sodium on the Arachidonic Acid Cascade. The American Journal of Medicine. 1986. 80(4p): 18-23.

24.- **Cashin C. y col**. The pharmacology of benoxaprofen (2-(4-chlorphenyl)-alfa-methyl)-5-benzoxazole acetic acid), LRCL 3794, a new compound with anti-inflamatory activity apparently unrelated to inhibition of prostaglandin syntesis. J. Pharm. Pharmacol. 1977. 29: 330-336.

25.- **Draize J.** Methods to the study of the irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and menbranes. J Pharm. 1994. 2(3): 8-12.

26.- **Lezcano I. y Cols.** Actividad *in vitro* del aceite de Girasol Ozonizado (oleozón) frente a diferentes especies bacterianas.Rev. CENIC, C. Biol. 1996. 27(1-3):46-49.

27.- **Neubert U, Jansen T, Plewig G**. Bacteriologic and inmunologic aspect of Gram-negative folliculitis: a study of 46 patients. International Journal of Dermatology 38. 1999: 270-274.

28.- **ISO 10993-10.** Biological evaluation of medical devices. Part 10: Test for irritation and sensitization. European Commitee for Standarization. 1996.

29.- **Díaz M, García G, García K, Sánchez Y, Tillan J.** Evaluation of ophthalmic, dermal irritability and the sensitizing effect of OLEOZON® Topic. Rev. Redvet Vol VII Nº 11. Noviembre 2006.

30.- Diseño de Interpretación de Pruebas Farmacológicas en Control de Calidad. Red de Control de Calidad de Medicamentos del Sector Salud. Ministerio de Salud. Volumen I. Serie de Documentos Nro 3. Lima diciembre 1996.

31.- **CYTED.** Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. Lima. Marzo 1995.

32.- **Robbins C.** Inflamación Patología Estructural y Funcional. Vol I, 4ª Edición. Editorial Interamericana. 1990 p. 39-71.

33.- **Williams P, Burson J.** Industrial Toxicology Safety and Health Applications in the Work Place. New York: Edit De Van Norstrand Rein Hold Company; 1985 p. 45-49.

34.- **Lezcano I, Molerio J, Gómez M, Contreras R, Roura G y Díaz W.** Actividad *in vitro* del OLEOZON frente a agentes etiológicos de infecciones en la piel. Revista CENIC Ciencias Biológicas 1998 ; 29: 209.

35.- **Suárez E.** Ácidos grasos esenciales en Dermatitis Atópica. Folia Dermatológica peruana.Vol 6- Nº 4.Lima. Diciembre 1995.

36.- **Leonarduzzi G, Scavazza, Biasi F, Chiarpotto E, Camandola S, Vogel S, Dargel R, Poli G.** The lipid peroxidation end product 4-hydroxy-2:3 nunenal up

regulates transforming growth factor beta 1 expression in the macrophage lienage : a link between oxidative injury and fibrosclerosis. FASEB J 1997 ; 11 : 851 – 857.

37.- **Belch J, Muir A.** n-6 and n-3 essential fatty acids in rheumatoid arthritis and rheumatic conditions. Proc Nutr. Soc 1998 ; 57 : 563 – 569.

38.- **British Pharmacopoeia** .Appendix XF, IA, IB. Peroxide value. 2000.

ANEXOS

TABLA 9

TOXICIDAD LETAL MEDIA (DL50)

Grupo I

Ratones	**Peso**	**Dosis de la Solución Problema**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	20	0.10 mL/20 g	VIVO	VIVO
Cabeza	19	0.10 mL/20g	VIVO	VIVO
Lomo	20	0.10 mL/20g	VIVO	VIVO
Cola	21	0.10 mL/20g	VIVO	VIVO
Pata Derecha	22	0.10 mL/20g	VIVO	VIVO

Grupo II

Ratones	**Peso**	**Dosis de la Solución Problema**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	21	0.25 mL/20 g	VIVO	VIVO
Cabeza	22	0.25 mL/20g	VIVO	VIVO
Lomo	20	0.25 mL/20g	VIVO	VIVO
Cola	19	0.25 mlL/20g	VIVO	VIVO
Pata Derecha	20	0.25 mL/20g	VIVO	VIVO

Grupo III

Ratones	**Peso**	**Dosis de la Solución Problema**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	20	0.50 mL/20 g	VIVO	VIVO
Cabeza	19	0.50 mL/20g	VIVO	VIVO
Lomo	20	0.50 mL/20g	VIVO	VIVO
Cola	20	0.50 mL/20g	VIVO	VIVO
Pata Derecha	21	0.50 mL/20g	VIVO	VIVO

Grupo IV

Ratones	**Peso**	**Dosis de la Solución Problema**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	19	1.00 mL/20 g	VIVO	VIVO
Cabeza	19	1.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Lomo	18	1.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Cola	21	1.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Pata Derecha	22	1.0 mL/20g	VIVO	VIVO

Grupo V

Ratones	**Peso**	**Dosis de la Solución Problema**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	22	2.00 mL/20 g	VIVO	VIVO
Cabeza	19	2.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Lomo	20	2.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Cola	20	2.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Pata Derecha	22	2.0 mL/20g	VIVO	VIVO

Grupo VI

Ratones	**Peso**	**Dosis de la Solución Problema**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	19	3.00 mL/20g	VIVO	VIVO
Cabeza	21	3.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Lomo	20	3.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Cola	20	3.0 mL/20g	VIVO	VIVO
Pata Derecha	21	3.0 mL/20g	VIVO	VIVO

Grupo VII

Ratones	**Peso**	**Dosis de la Solución Problema**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	20	3.50 mL/20 g	VIVO	VIVO
Cabeza	22	3.5 mL/20g	VIVO	VIVO
Lomo	21	3.5 mL/20g	VIVO	VIVO
Cola	20	3.5 mL/20g	VIVO	VIVO
Pata Derecha	20	3.5 mL/20g	VIVO	VIVO

Grupo VIII

Ratones	**Peso**	**Control**	Evaluación a las 24 horas	Evaluación a las 48 horas
Blanco	20	0 mL/kg	VIVO	VIVO
Cabeza	20	0 mL/kg	VIVO	VIVO
Lomo	20	0 mL/kg	VIVO	VIVO
Cola	21	0 mL/kg	VIVO	VIVO
Pata Derecha	22	0 mL/kg	VIVO	VIVO

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)
Facultad de Ciencias Biológicas
Departamento de Zoología
Laboratorio de Reproducción y Biología del Desarrollo
Casilla 11-058, Lima 11, Telefax 51-16 197000-1509
Lima, Perú

CONSTANCIA

El que suscribe, jefe del Laboratorio de Reproducción y Biología del Desarrollo del Departamento Académico de Zoología de la Facultad de Ciencias Biológicas.

Deja constancia,

Que, en el periodo marzo - abril de 2005 acompañé al Mg. Carlos Bell Cortez a la localidad de Castilla, provincia de Piura, departamento de Piura en donde se colectaron 6 individuos hembras y en diferentes estadios de gravidez, identificados como Iguana Verde (*Iguana iguana*), los que fueron sacrificados a fin de colectar tejido adiposo subdermal.

Se expide la constancia a solicitud del interesado para los fines que crea conveniente.

Lima, 15 de abril de 2005

Mg. José Luis R. Pino Gavino
Biólogo-Zoólogo

LABORATORIO DE REPRODUCCION
Y BIOLOGIA DEL DESARROLLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
U. N. M. S. M.
Apartado · Lima 100
LIMA - PERU

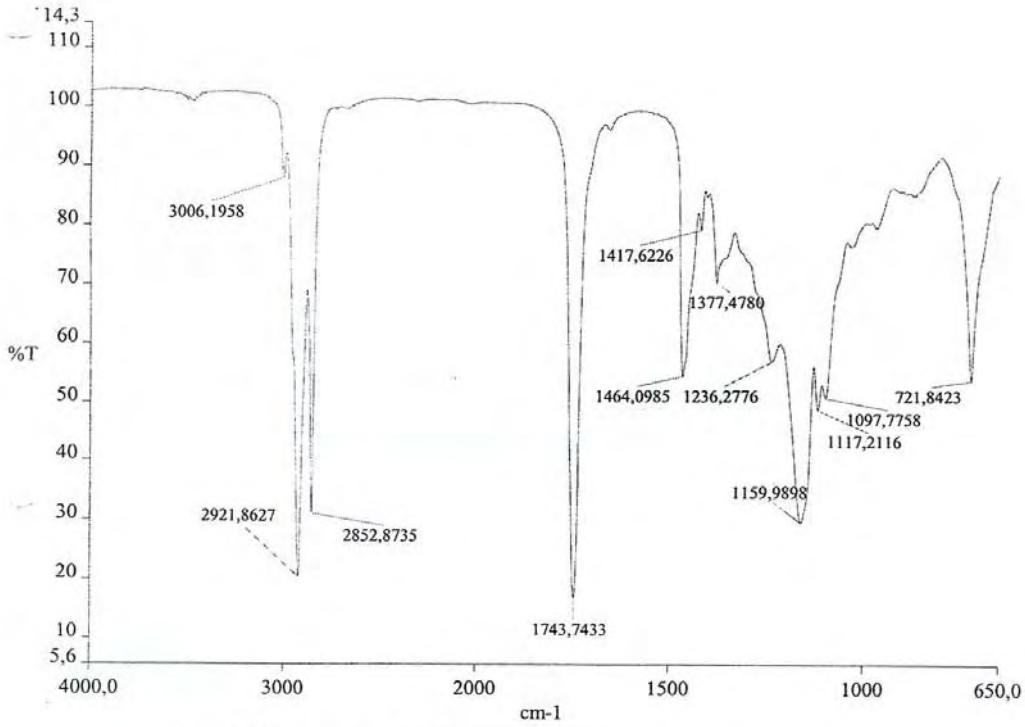
FARMACEUTICA DEL
PACIFICO S.A.C.

Control de Calidad

Reporte Nº 1

MUESTRA : ACEITE DE IGUANA
PROVEEDOR :
LOTE SAP :
LOTE PROV. :

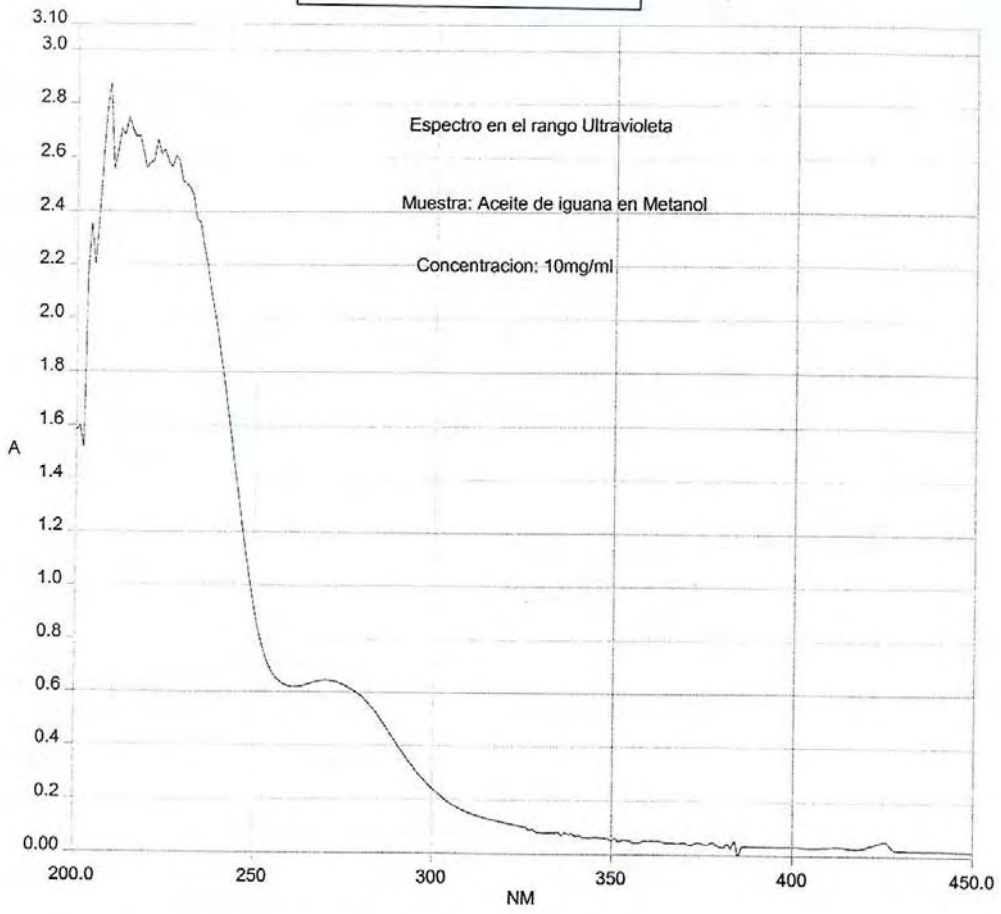
ANALISTA :
FECHA : 23-09-05



Aceite de Iguana.sp - 23/09/2005 - Muestra

Date: 9/23/05 Time: 6:11:41 PM

Reporte Nº 2



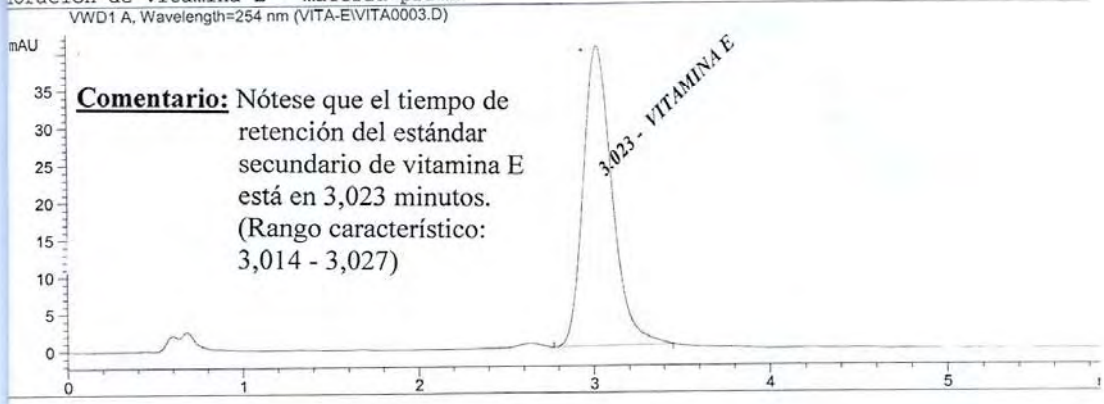
IGUAAC.SP - 9/23/05 - Aceite de Iguana

ta File C:\HPCHEM\1\DATA\VITA-E\vita0003.D Sample Name: std vitamin

jection Date : 9/23/05 6:03:30 PM Seq. Line : 2
mple Name : std vitamina e Vial : 1
q. Operator : Inj : 2
Inj Volume : 20 µl

quence File : C:\HPCHEM\1\SEQUENCE\VITAMINE.S
q. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\VITAMINE.M
st changed : 9/23/05 6:02:49
(modified after loading)
alysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\VITAMINE.M
st changed : 9/26/05 10:08:07
(recalibrated in sequence after loading)
loracion de vitamina E - materia prima

Reporte Nº 3



Comentario: Nótese que el tiempo de retención del estándar secundario de vitamina E está en 3,023 minutos. (Rango característico: 3,014 - 3,027)

Calibration Table (after recalibration)

lib. Data Modified : Monday, September 26, 2005 10:08:07 PM

vel 1 calibrated: Average Response Factors of all calibrations,
Floating Average of Retention Times, New 75%

gnal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

tTime [min]	Lvl Sig	Amount [%]	Area	Amt/Area	Ref Grp	Name
3.025	1 1	1.01451	460.42831	2.20340e-3		VITAMINA E

1. Reference Window : 30.000 %
s. Reference Window : 0.000 min
1. Non-ref. Window : 5.000 %
s. Non-ref. Window : 0.000 min
calibrated Peaks : not reported
rtial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
rrect All Ret. Times: No, only for identified peaks

rve Type : Linear
igin : Included
ight : Equal

External Standard Report (after recalibration)

rted By : Signal
lib. Data Modified : Monday, September 26, 2005 10:08:07 PM
ltiplier : 1.0000
lution : 1.0000

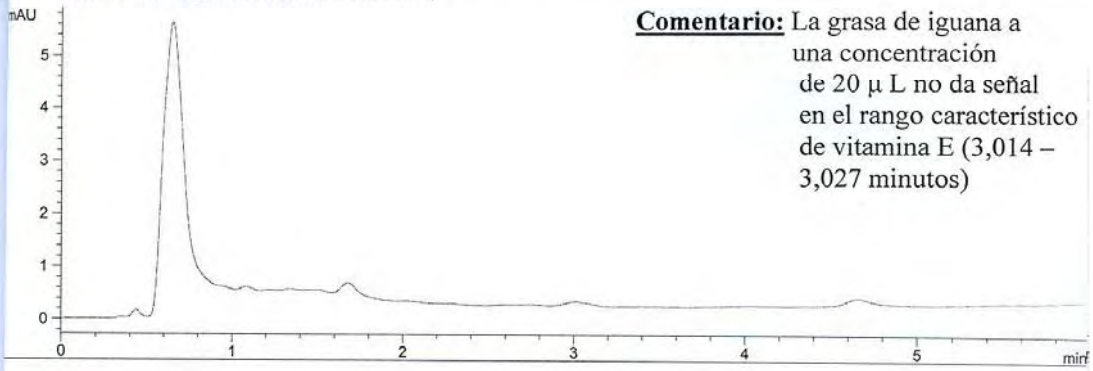
ARPASAC 9/26/05 10:10:03

ta File C:\HPCHEM\1\DATA\VITA-E\vita0008.D Sample Name: iguana aceite

jection Date : 9/23/05 6:40:42 PM Seq. Line : 5
mple Name : iguana aceite Vial : 4
q. Operator : Inj : 1
Inj Volume : 20 µl
quence File : C:\HPCHEM\1\SEQUENCE\VITAMINE.S
q. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\VITAMINE.M
st changed : 9/23/05 6:38:58
(modified after loading)
alysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\VITAMINE.M
st changed : 9/26/05 10:08:07
loracion de vitamina E - materia prima

Reporte Nº 4

VWD1 A, Wavelength=254 nm (VITA-E\VITA0008.D)



Comentario: La grasa de iguana a una concentración de 20 µ L no da señal en el rango característico de vitamina E (3,014 – 3,027 minutos)

External Standard Report

rted By : Signal
lib. Data Modified : Monday, September 26, 2005 10:08:07 PM
ltiplier : 1.0000
lution : 9.8590

gnal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

tTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
3.025		-	-	-		VITAMINA E

tals : 0.00000

esults obtained with enhanced integrator!
Warnings or Errors :

rning : Calibrated compound(s) not found

Area Percent Report

rted By : Signal
lib. Data Modified : Monday, September 26, 2005 10:08:07 PM
ltiplier : 1.0000
lution : 9.8590

gnal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

ak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Area %	Name
1	3.025		0.0000	0.00000	0.0000	VITAMINA E

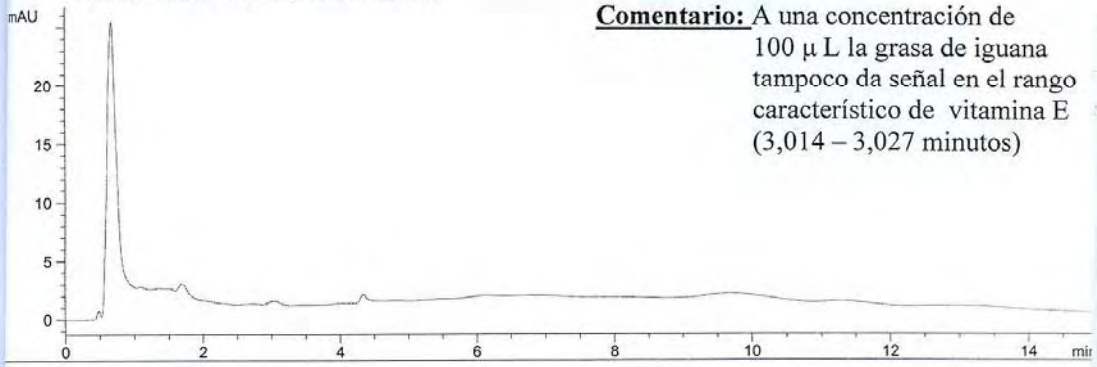
ARPASAC 9/26/05 10:10:03 PM D.ECHEVARRIA R.

ta File C:\HPCHEM\1\DATA\VITA-E\vita0012.D Sample Name: iguana aceite

```
jection Date  : 9/23/05 7:10:55 PM          Seq. Line :   7
mple Name     : iguana aceite                 Vial :   4
q. Operator   :                               Inj :   1
                                          Inj Volume : 100 µl
quence File   : C:\HPCHEM\1\SEQUENCE\VITAMINE.S
q. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\VITAMINE.M
st changed    : 9/23/05 7:20:07
                (modified after loading)
alysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\VITAMINE.M
st changed    : 9/26/05 10:09:30
loracion de vitamina E - materia prima
```

Reporte Nº 5

VWD1 A, Wavelength=254 nm (VITA-E\VITA0012.D)



Comentario: A una concentración de 100 µ L la grasa de iguana tampoco da señal en el rango característico de vitamina E (3,014 – 3,027 minutos)

```
                    External Standard Report

rted By              :      Signal
lib. Data Modified   :      Monday, September 26, 2005 10:09:30 PM
ltiplier             :      1.0000
lution               :      9.8590

gnal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

tTime  Type     Area      Amt/Area    Amount    Grp   Name
[min]         mAU   *s                 [%]
------|------|----------|----------|----------|--|------------------
3.035             -          -          -          VITAMINA E

tals :                                  0.00000

esults obtained with enhanced integrator!
Warnings or Errors :

rning : Calibrated compound(s) not found

                      Area Percent Report

rted By              :      Signal
lib. Data Modified   :      Monday, September 26, 2005 10:09:30 PM
ltiplier             :      1.0000
lution               :      9.8590

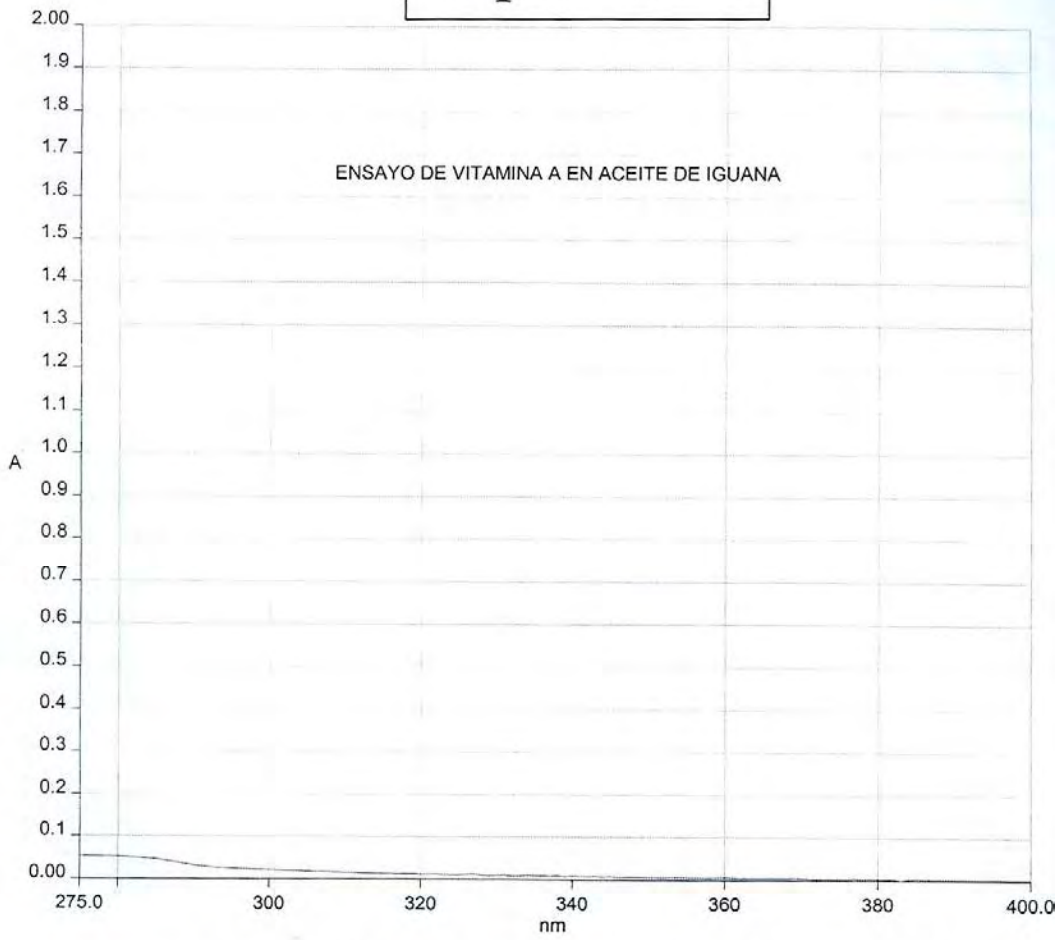
gnal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

ak RetTime  Type    Width      Area       Area     Name
 #   [min]          [min]  mAU   *s         %
---|-------|------|-------|----------|--------|--------------------
  1   3.035         0.0000    0.00000   0.0000 VITAMINA E

FARPASAC 9/26/05 10:10:03
```

Date: 11/29/05 Time: 7:46:26 PM

Reporte N° 6



Comentario: NO HAY VITAMINA A, porque no presenta pico a 325 nm característico de dicha vitamina (USP 28)

Title :
Run File : c:\star\data\omega\m1rr.run
Method File : c:\star\metodos\gc-8500\iodom3.mth
Sample ID : M1rr

Injection Date: 23/10/2005 01:13 p.m. Calculation Date: 26/10/2005 03:28 p.m.

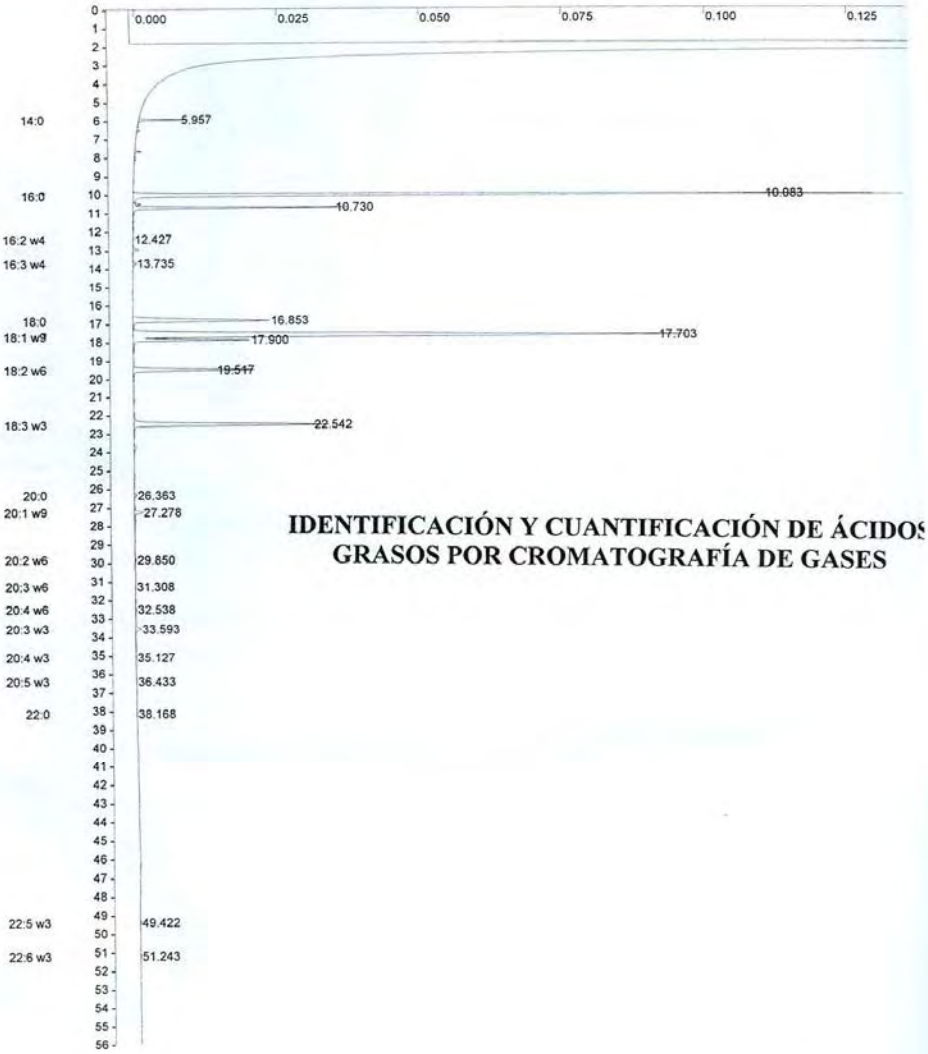
Operator : GL
Workstation:
Instrument : Varian Star #1
Channel : 1 = 1

Detector Type: 0800 (10 Volts)
Bus Address : 80
Sample Rate : 1.00 Hz
Run Time : 56.017 min

Reporte Nº 7

** GC Workstation Version 6.20 ** 03074-6390-826-0660 **

Chart Speed = 0.35 cm/min Attenuation = 64 Zero Offset = 3%
Start Time = 0.000 min End Time = 56.017 min Min / Tick = 1.00



IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

Print Date: Wed Oct 26 15:40:22 2005 Page 1 of 1

Title :
Run File : c:\star\data\omega\m1rr.run
Method File : c:\star\metodos\gc-8500\iodom3.mth
Sample ID : M1rr

Injection Date: 23/10/2005 01:13 p.m. Calculation Date: 26/10/2005 03:28 p.m.

Operator : GL
Workstation:
Instrument : Varian Star #1
Channel : 1 = 1

Detector Type: 0800 (10 Volts)
Bus Address : 80
Sample Rate : 1.00 Hz
Run Time : 56.017 min

** GC Workstation Version 6.20 ** 03074-6390-826-0660 **

Reporte Nº 8

Run Mode : Analysis
Peak Measurement: Peak Area
Calculation Type: Percent (Normalized Results)

Peak No.	Peak Name	Result ()	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
1	14:0	0.9	5.957	-0.004	27289	BP	2.7	
2	16:0	28.9	10.083	-0.032	869978	BV	6.6	
3	16:1 w7	6.2	10.730	-0.043	185354	VB	4.5	
4	16:2 w4	0.0	12.427	-0.049	755	BV	5.1	
5	16:3 w4	0.2	13.735	0.112	4531	BV	5.6	
6	18:0	7.0	16.853	-0.022	211950	BV	8.1	
7	18:1 w9	34.9	17.703	0.018	1051855	VV	10.8	
8	18:1 w7	4.0	17.900	-0.061	119005	VB	5.5	
9	18:2 w6	5.2	19.517	-0.079	157730	BB	6.7	
10	18:3 w3	9.7	22.542	-0.009	293181	VP	7.8	
11	20:0	0.1	26.363	-0.040	4408	VP	8.6	
12	20:1 w9	0.5	27.278	0.019	15853	PV	8.6	
13	20:2 w6	0.1	29.850	0.015	2482	BB	8.7	
14	20:3 w6	0.0	31.308	-0.112	507	BB	7.0	
15	20:4 w6	0.1	32.538	0.009	2266	VB	9.7	
16	20:3 w3	0.3	33.593	0.010	10081	BP	9.4	
17	20:4 w3	0.1	35.127	-0.021	1527	VB	9.8	
18	20:5 w3	0.0	36.433	-0.015	1206	BB	10.6	
19	22:0	0.0	38.168	-0.152	897	BB	0.0	
20	22:5 w3	0.1	49.422	0.043	2015	BB	10.3	
21	22:6 w3	0.0	51.243	-0.007	717	BB	7.6	
	Totals:	98.3		-0.420	2963587			

Total Unidentified Counts : 46100 counts

Detected Peaks: 53 Rejected Peaks: 0 Identified Peaks: 21

Multiplier: 1 Divisor: 1 Unidentified Peak Factor: 0

Baseline Offset: -852 microVolts LSB: 1 microVolts

Noise (used): 33 microVolts - monitored before this run

Manual injection

****

RESUMEN EN PORCENTAJE DE ÁCIDOS GRASOS HALLADOS