

Universidad Peruana Cayetano Heredia

Facultad de Ciencias y Filosofía “Alberto Cazorla Talleri”



Evaluación biológica de la actividad tóxica aguda y del efecto antiinflamatorio sobre la artritis reumatoide inducida por colágeno tipo II en el modelo animal ratas macho de la cepa Lewis (MCH haplotipo RT¹) del pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides*.

AUTOR

Katherine Anttonina Nataly Campos Perez

**Tesis para optar el Título de
Licenciado en Biología**

**Lima – Perú
2018**

Jurado calificador

Presidenta: Doctora Magdalena Pavlich Herrera

Secretaria: Mg Graciela Untiveros Bermudez

Vocal: Mg Ruth Cristobal Delgado

MSc. León Villegas Vílchez

PhD. Iván Lozada Requena

Asesor de Tesis

Co-asesor de tesis

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a todas las personas que estuvieron apoyándome en el camino para realizar esta tesis que tuvo muchos altibajos donde muchas veces parecían imposibles de pasar, en especial a mis padres que siempre han creído en mí a pesar de todo, que me enseñaron a ser perseverante y fuerte que en el camino de la ciencia es vital, también me agradezco a mí misma por no rendirme y soportar el proceso a pesar de que muchas veces parecía una misión imposible.

Agradecimientos

A mi asesor MSc. León Villegas Vílchez, por el apoyo y dirección para poder concluir este trabajo de investigación al proporcionarme las instalaciones del Servicio de Control de Calidad para poder realizar la parte experimental de mi investigación, también un agradecimiento para mi co-asesor PhD. Iván Lozada Requena que me apoyo desde el inicio del proyecto y facilitarme las instalaciones de laboratorio de Inmunología – LID, al PhD. Javier Mamani Anatomopatólogo veterinario que me ayudo con la lectura de los cortes histológicos.

Al Lic Julio Hidalgo, colega y amigo; gracias por siempre aconsejarme y ayudarme a solucionar las dudas y los problemas que se me presentaban en el camino, usted mejor que nadie sabe que el camino fue difícil pero no imposible.

A la Dra. Magdalena Pavlich; gracias por la idea, el apoyo para iniciar este trabajo y todo el soporte técnico, por darme a los coleópteros *Ulomoides dermestoides* los protagonistas en esta investigación.

A todos los profesores de mi alma mater UPCH por inculcarme el deseo de investigar y estimular mi curiosidad por las cosas que la gente común no puede ver ni entender.

A mis amigos ustedes saben quiénes son por su lealtad y sincero interés al darme su apoyo moral para poder concluir con este trabajo que bien saben fue complicado de terminar, también a mis colegas del Servicio de Control de Calidad por ayudarme y brindarme sus consejos y amistad.

INDICE

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE GRAFICOS

1. INTRODUCCIÓN:	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Artritis reumatoide.	3
2.2. Inflamación y Patogénesis de la Artritis Reumatoide	4
2.3 Manifestaciones clínicas	6
2.4. Diagnóstico clínico para Artritis reumatoide	7
2.5. Epidemiología de la Artritis Reumatoide	8
2.6. Tratamiento de la artritis reumatoide	11
2.6.1. Tratamiento clásico	12
2.6.2. Antirreumáticos moduladores de la enfermedad: Metotrexato, Sulfasalacina y Leflunomida.	12
2.6.3. Terapia biológica en la Artritis reumatoide.....	13
2.7. Terapias alternativas para el tratamiento de AR	13
2.7.1 <i>Ulomoides dermestoides</i> “Gorgojo del Maní”	14
2.7.2. Descripción del Gorgojo del maní.....	16
.....	20
2.7.3. Ciclo de vida del <i>Ulomoides dermestoides</i>	21
2.7.4. Alimentación	22
2.7.5. Tratamiento empírico con el <i>Ulomoides dermestoides</i>	23
3. HIPÓTESIS	24
4. OBJETIVOS	24
4.1. Objetivo principal	24
4.2. Objetivos específicos	24
5. JUSTIFICACIÓN	25
6. MATERIALES Y MÉTODO	26
6.1. Materiales	26
6.1.1. Reactivos	26
6.2 Diseño de estudio	27
6.2.1 Operacionalización de variables.....	27
6.2.2. Tamaño de la muestra.....	28

6.3. Crianza de los coleópteros <i>Ulomoides dermestoides</i>	28
6.4. Animales de laboratorio	29
6.5. Evaluación Biológica	29
6.5.1. Preparación del pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	29
6.5.2 Prueba de toxicidad aguda oral del pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	30
6.6. Inducción de artritis reumatoide en ratas macho cepa Lewis	31
6.7. Tratamiento con el pulverizado de coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	33
6.7.1. Evaluación histológica de las patas de las ratas macho de la cepa Lewis.....	34
6.8. ANALISIS ESTADISTICO	37
7. RESULTADOS	38
7.1. Prueba de toxicidad aguda oral del pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i> (DL50)	38
7.2. Efecto del pulverizado de coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i> en ratas inducidas con Artritis reumatoide	40
7.3. Análisis histológicos del tejido sinovial y la erosión del hueso del modelo animal rata cepa Lewis sometidas a un tratamiento con el pulverizado de coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	44
8. DISCUSIÓN	51
9. CONCLUSIONES	56
10. RECOMENDACIONES	57
11. BIBLIOGRAFÍA	58
12. ANEXO	65

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Peso corporal de Ratas Macho de la cepa Lewis durante la prueba de toxicidad aguda DL_{50}	38
Gráfico 2. Espesor de patas (mm) durante las semanas de tratamiento con el pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i> en las ratas inducidas con artritis reumatoide (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).....	41
Gráfico 3. Porcentaje de disminución de la hinchazón de las patas (mm) del modelo de artritis animal ratas cepa Lewis.	42
Gráfico 4. Scores de inflamación de las patas durante las semanas de tratamiento con el pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i> en las ratas inducidas con artritis reumatoide (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).	43
Gráfico 5. Porcentaje de disminución de la hinchazón del scores de inflamación de las patas del modelo de artritis animal ratas cepa Lewis.....	44
Gráfico 6. Score del tejido sinovial de las ratas tratadas con el pulverizado de <i>Ulomoides dermestoides</i> (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).....	46
Gráfico 7. Score de la erosión del hueso de las ratas tratadas con el pulverizado de <i>Ulomoides dermestoides</i> (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).....	47
Gráfico 8. Promedio de pesos de las ratas durante la prueba de toxicidad Aguda DL_{50} . 66	
Gráfico 9. Composición química proximal del pulverizado de coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	67

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables independientes y dependientes del estudio con el pulverizado de coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	27
Tabla 2. Prueba de toxicidad aguda oral del pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	31
Tabla 3. Distribución de grupos inducidos para el tratamiento con el pulverizado de <i>Ulomoides dermestoides</i>	32
Tabla 4. Scores de inflamación de las ratas inducidas con colágeno tipo II.....	32
Tabla 5. Dosis en mg/kg de los tratamientos con el pulverizado de <i>Ulomoides dermestoides</i> , del Metotrexate, Carboximetil celulosa 5% en las de las ratas macho cepa Lewis.	34
Tabla 6. Score de inflamación en el tejido sinovial de ratas Inducidas por colágeno tipo II.....	36
Tabla 7. Scores de erosión de hueso de ratas inducida con colágeno tipo II.....	37
Tabla 8. Mortalidad de Ratas Macho cepa Lewis -Toxicidad Aguda Oral DL_{50}	39
Tabla 9. Valor nutricional de los pilet con que se alimentó a los animales del ensayo. 65	
Tabla 10. Control de pesos de las ratas usadas para la prueba de toxicidad aguda DL_{50} .65	

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Muestra Huevos de Ulomoides dermestoides, que se de color blanquecino, cuyo tamaño es menos a 1mm	16
FIGURA 2. Muestra Larva de Ulomoides dermestoides, a diferentes estadios de crecimiento.....	17
FIGURA 3. Muestra la Pupa de Ulomoides dermestoides donde se puede observar los ojos bien desarrollados.....	¡Error! Marcador no definido.
FIGURA 4. Muestra las Papilas genitales del macho del coleóptero Ulomoides dermestoides, por la parte posterior de la pupa.	18
FIGURA 5. Muestra las Papilas genitales de la hembra del coleóptero Ulomoides dermestoides, por la parte posterior de la pupa	¡Error! Marcador no definido.
FIGURA 6. Muestra a un Coleóptero adulto del Ulomoides dermestoides, por la parte anterior y posterior.....	20
FIGURA 7. Aparato genital de un U. dermestoides hembra donde se observa dos bifurcaciones en la parte terminal.....	20
FIGURA 8. Ciclo de vida del Ulomoides dermestoides “gorgojo del mani” comprenden 67.6 días y consta de cuatro etapas: 1) huevo, 2) larva (siete instares), 3) pupa y 4) adulto., tomada de Yenifer Morillo, 2016 ³⁶	22
FIGURA 9. a.1) control negativo rata sanas las flechas verde muestra un cartílago normal, cuadrado azul muestra la cavidad articular limpia, muestra un hueso conservado, a.2) las flechas rojas muestran una articulación normal, cuadrado azul muestra la cavidad articular limpia, muestra un hueso conservado.....	48
FIGURA 10. b.1) Grupo CIA ratas enfermas, las flechas negras erosión total del hueso, cuadrado verde punteado, pérdida total del cartílago, sin revestimiento de la articulación b.2) las flechas rojas presencia de fibrosis, engrosamiento de la membrana sinovial y formación de vellosidades, presencia de pannus donde se muestra infiltrado celular de células inflamatorias como linfocitos, etc. presencia de y osteoclastos en el tejido sinovial.....	¡Error! Marcador no definido.
FIGURA 11. c.1) Grupo Metotrexato ratas tratadas con un fármaco conocido, cuadrado azul muestra mejor conservación del hueso y el cartílago, presenta una erosión menor del hueso, flechas negras muestran conservación del hueso, c.2) el cuadrado negro indica presencia de algunas células inflamatorias en el tejido sinovial, también hay engrosamiento leve de la membrana sinovial y formación de vellosidades con formación de pannus, mejor conservado.....	¡Error! Marcador no definido.
FIGURA 12. d.1) Grupo UD1000mg/kg, las flechas negras muestran hueso erosionado, cuadrado negro muestra mejor conservación del hueso y del cartílago presencia de osteoclastos, mayor espacio articular, d.2) en el cuadrado amarillo se observa engrosamiento de la membrana sinovial donde hay formación de vellosidades y formación de pannus, hay presencia de células inflamatorias.	¡Error! Marcador no definido.

FIGURA 13. e.1) Grupo UD500 mg/kg, las flechas negras muestran hueso erosionado pero mejor conservado, cuadro verde muestra cartílago conservado presencia de osteoclastos, mayor conservación hueso, e.2) en el cuadrado amarillo muestra engrosamiento de la membrana sinovial y formación de vellosidades, presencia de pannus, infiltrado de células inflamatorias en el tejido sinovial.;Error! Marcador no definido.

FIGURA 14. f.1) Grupo UD 250 mg/kg, las flechas negras muestran partes de hueso erosionado, cuadro negro muestra conservación del hueso, f.2) en el cuadrado naranja muestra engrosamiento de la membrana sinovial, formación de vellosidades, presencia de células inflamatorias en el tejido sinovial.;Error! Marcador no definido.

FIGURA 15. Procedimiento de prueba con una dosis inicial de 2000 mg / kg de peso corporal. 66

FIGURA 16. Control negativo (ratas Lewis sin inducción por de artritis por colágeno tipo II..... 68

FIGURA 17. Grupo CIA modelo animal ratas cepa Lewis inducidas por colágeno tipo II..... 68

FIGURA 18. Ratas cepa Lewis tratadas con un fármaco conocido Metotrexate INICIO DEL ENSAYO DIA 1. 69

FIGURA 19. Ratas cepa Lewis tratadas con un fármaco conocido Metotrexate FINAL DEL ENSAYO DIA 42. 69

FIGURA 20. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de Ulomoides dermestoides (UD1000mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 1. 70

FIGURA 21. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de Ulomoides dermestoides (UD1000mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 42. 70

FIGURA 22. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de Ulomoides dermestoides (UD500mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 1. 71

FIGURA 23. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de Ulomoides dermestoides (UD500mg/kg) FINAL DEL ENSAYO DIA 42..... 71

FIGURA 24. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de Ulomoides dermestoides (UD250mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 1 72

FIGURA 25. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de Ulomoides dermestoides (UD250mg/kg) FINAL DEL ENSAYO DIA 42..... 72

RESUMEN

La Artritis reumatoide es una enfermedad degenerativa que actúa sobre las articulaciones, afectando las rodillas, los dedos de las manos y/o pies provocando así rigidez y dolores fuertes. En el Perú, el 1% de la población poseen esta enfermedad y las cifras van en aumento. El objetivo principal de este trabajo fue evaluar la actividad tóxica aguda y el efecto antiinflamatorio del pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* “gorgojo del maní” para el tratamiento alternativo de artritis reumatoide utilizando un modelo animal de artritis en ratas macho cepa Lewis (MHC haplotipo RT¹) a las cuales se les indujo la artritis con el Colágeno tipo II de bovino.

Se determinó la Toxicidad aguda utilizando la Guía OECD 423, y para la evaluación de la actividad antiinflamatoria los animales fueron sometidos a un tratamiento a diferentes dosis del pulverizado de coleóptero (UD1000 mg/kg, UD500 mg/kg, UD250mg/g), teniendo un grupo control con agua destilada y uno con Metotrexato 0.2 mg/kg.

Los resultados muestran que el pulverizado tiene una toxicidad aguda (DL₅₀) mayor de 5 g de pulverizado/kg de peso de animal. Así mismo, las tres dosis ensayadas del pulverizado presentan un efecto antinflamatorio. Los cortes histológicos de los tratamientos mostraron que la inflamación del tejido sinovial y erosión del hueso fue significativamente menor ($p < 0.01$) que el grupo de artritis inducida por colágeno, sin tratamiento (CIA). Además, se observó que las tres dosis tienen un efecto similar a la del fármaco Metotrexato (0.2 mg/kg) ya que se pudo ver que la erosión de hueso y presencia de células inflamatorias fue similar, a diferencia de los controles en el caso del grupo CIA, en el cual se observó deterioro del hueso, la formación del pannus y el infiltrado celular. El grupo control negativo mostró un hueso sano y un tejido sinovial limpio. Con el presente trabajo concluimos que el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* tiene un efecto antiinflamatorio sobre este modelo animal probado a las dosis UD1000 mg/kg, UD500 mg/kg, UD250mg/kg y además no presentó efecto tóxico.

Palabras claves: *Ulomoides dermestoides*, cepa Lewis (MHC haplotipo RT¹), artritis reumatoide

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis is a degenerative disease that acts on the joints, affecting the knees, the fingers and / or toes, causing stiffness and severe pain. In Peru, 1% of the population has this disease and the numbers are increasing. The main objective of this work was to evaluate the acute toxic activity and the anti-inflammatory effect of the pulverized coleoptera *Ulomoides dermestoides* "peanut weevil" for the alternative treatment of rheumatoid arthritis using an animal model of arthritis in male Lewis strain rats (MHC haplotype RT1) to which arthritis was induced with bovine Type II Collagen.

Acute Toxicity was determined using the OECD Guide 423, and for the evaluation of the anti-inflammatory activity, the animals were subjected to a treatment at different doses of the coleopter spray (UD1000 mg / kg, UD500 mg / kg, UD250mg / g), a control group with distilled water and one with Methotrexate 0.2 mg / kg.

The results show that the spray has an acute toxicity (LD50) greater than 5 g of pulverized / kg animal weight. Likewise, the three tested doses of the spray present an anti-inflammatory effect, the histological sections of the treatments showed that the synovial tissue inflammation and bone erosion was significantly lower ($p < 0.01$) than the collagen-induced arthritis group, without treatment (INC). It was also observed that the three doses have an effect similar to that of the drug Methotrexate (0.2 mg / kg) since it was possible to see that bone erosion and presence of inflammatory cells was similar, unlike the controls in the case of the group CIA, in which bone deterioration, pannus formation and cellular infiltration were observed. The negative control group showed healthy bone and clean synovial tissue. With the present work we conclude that the pulverized coleoptera *Ulomoides dermestoides* has an anti-inflammatory effect on this animal model tested at doses UD1000 mg / kg, UD500 mg / kg, UD250mg / kg and also has no toxic effect.

Key words: *Ulmoides dermestoides*, *Lewis strain (MHC haplotype RT1)*, *rheumatoid arthritis*

1. INTRODUCCIÓN:

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune de tipo degenerativa que afecta a las articulaciones del cuerpo provocando dolor, rigidez, hinchazón y movimiento limitado. Se puede producir en cualquiera de las articulaciones, pero es mucho más frecuente en las rodillas, caderas y dedos de las manos^{1,2}. Es una enfermedad que tiene una etiología misteriosa pero una serie de estudios indican que puede ser una mezcla de factores genéticos y ambientales^{1,2,3}; predominando más entre mujeres que entre hombres^{1,3}. Los pacientes pueden presentar manifestaciones extra-articulares y la expectativa de vida es muy corta. Las personas con AR presentan un sistema inmunológico hiperactivo, los linfocitos se aglomeran en la membrana que cubre las articulaciones afectadas, conduciendo a la inflamación (hinchazón) que contribuye al daño del cartílago y hueso. Los mensajeros químicos entre las células, llamados citoquinas, son proteínas que juegan un papel clave en la inflamación y el daño al cartílago y hueso debido a que ellas permiten que las células del sistema inmune se comuniquen. Una de las citoquinas más importantes es la llamada factor de necrosis tumoral (TNF- α) que interviene en la comunicación directa de célula a células, y la interleucina-6 (IL-6) también es una proteína producida por las células T que contribuyen al dolor y la hinchazón que ocurre en las articulaciones inflamadas ya que es una célula proinflamatoria^{1,2}.

En el Perú cerca del 1% de la población sufre este terrible mal, las personas que presentan esta enfermedad van desde entre los 40 a los 60 años^{4,5,6}. No hay un tratamiento específico conocido que cure la AR, sin embargo existen métodos alternativos, los cuales disminuyen el dolor y la inflamación. Estos son muy variados y van desde analgésicos, antiinflamatorios de venta libre hasta los medicamentos antirreumáticos, esteroides, pero el uso de estos fármacos pueden producir problemas en el sistema digestivo, hepático, renal, entre otros, por lo cual hay otros productos naturales como plantas medicinales entre las más conocidas tenemos a *Uncaria tomentosa* “Uña de gato”⁷. Otras alternativas, que se tiene es la medicina tradicional china, como la acupuntura y masajes de relajación.

Dentro de los métodos alternativos para el tratamiento de la AR está el uso de *Ulomoides dermestoides*, conocido como “gorgojo del maní”. Es un escarabajo perteneciente a la familia Tenebrionidae de color marrón oscuro que se considera una plaga para algunos granos como maíz, trigo, arroz y soya, pero posee una gama de características muy interesantes como secreciones volátiles como las benzoquinonas y alquenos⁸. Se han realizado estudios in vivo e in vitro para probar su efecto antiinflamatorio en modelos animales que poseían inflamaciones agudas mostrando la disminución de leucocitos y PMN por la reducción de los exudados en los edemas provocados por la inflamación⁸, además de una tasa nutricional la cual consta de una alta cantidad de proteínas y baja en grasas⁹. Son originarios de China y todo el sudeste asiático¹¹, y vienen siendo utilizados de manera empírica por una parte de la población como remedio casero para una serie de enfermedades, incluyendo trastornos neoplásicos inflamatorios, respiratorios y el asma. Esta especie de coleóptero posee un ciclo de vida muy corto y su mantenimiento requiere un esfuerzo mínimo. Además, que su tipo de alimentación no es costosa¹⁰, sin embargo aún no se ha demostrado que los tratamientos con este coleóptero tengan algún asidero científico en la mayoría de los casos.

Con este estudio se busca comprobar que el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* no es tóxico y que tiene efectos antiinflamatorios en un modelo animal de artritis ratas macho de la cepa Lewis MHC haplotipo RT¹). Esto podría ayudar a mejorar la calidad de vida en pacientes que sufren la enfermedad AR, sobre todo para aquellas personas que no cuentan con recursos suficientes para comprar un fármaco.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Artritis reumatoide.

La palabra artritis proviene del griego “arthros” que significa “articulación” y el sufijo “itis” que significa inflamación ¹¹.

La AR es una de las enfermedades reumáticas más comunes que ataca al sistema inmune cuyo origen es desconocido. Se han realizado estudios sobre los sucesos que desencadenan la enfermedad, el desarrollo de esta, así como los mecanismos que se activan. Desgraciadamente no se ha podido encontrar la forma de detener de manera parcial o definitiva. Estudios suponen que la presencia de agentes endógenos, algunos agentes virales, y bacterianos presentes en la membrana sinovial, el aumento de anticuerpos específicos en la sangre; en el caso de los agentes endógenos que pueden ser proteínas del tejido conectivo inmunoglobulinas alteradas. En el caso de los animales el colágeno tipo II es la principal causa de artritis reumatoide, por ello es usado para estudios en animales. En caso de los humanos el colágeno tipo II puede contribuir al deterioro de las articulaciones, entonces se podría decir que la respuesta del sistema inmune frente al deterioro del cartílago son la formación de inmunocomplejos y factores reumatoides en la sinovia, por otro lado en los años ochenta se realizó un estudio en pacientes con artritis reumatoide donde en el 80% se encontró anticuerpos específicos para el virus Epstein Barr y la respuesta de auto-anticuerpo en la artritis reumatoide. A este virus se le conoce por ser un activador policlonal de los linfocitos B ocasionando una sobre producción de inmunoglobulinas que incluyen el factor reumatoide que puede ser considerado el exacerbador del proceso inflamatorio. ^{4, 12,13}

2.2. Inflamación y Patogénesis de la Artritis Reumatoide

La inflamación es una respuesta de nuestro organismo ante el daño a los tejidos, ocasionando que mediadores celulares y humorales tengan una reacción de defensa ante este daño, dándose los signos de respuesta que son rubor, dolor, calor y tumor. La inflamación se puede dar de manera aguda y crónica donde la primera tiene un periodo de duración corto produciéndose la exacerbación de los neutrófilos principalmente. En cuanto a la inflamación crónica es de mayor duración donde intervienen los linfocitos y macrófagos, siendo un proceso en el cual se produce una vasodilatación, permeabilidad vascular y adhesión de leucocitos en el endotelio, los linfocitos y plaquetas, rompiendo y liberando mediadores proinflamatorios. Existen mediadores como por ejemplo los lipídicos leucotrienos que son producidos por neutrófilos, eosinófilos y basófilos que producen vasoconstricción, por otro lado las citoquinas proinflamatorias como las interleuquinas, IFN- γ y TNF- α ¹²

Los macrófagos o células dendríticas sinoviales detectan, procesan y presentan los antígenos a las células T que forman el 30% al 50% del total de células sinoviales siendo las más predominantes los CD4 que expresan marcadores de activación HLA-DR . Esto desencadena una respuesta inmune provocando que las células B que forman el 1% al 5% de las células sinoviales, ¹⁴ su función es importante porque se diferencian en células plasmáticas para secretar anticuerpos como el Factor reumatoide FR ¹⁴. La AR se produce en personas que portan una determinada carga genética (antígenos de clase II de complejo mayor de histocompatibilidad MHC), que le confiere susceptibilidad a la respuesta inmune ante un Antígeno ¹⁵, en su mayoría las personas que sufren esta enfermedad son portadores de los alelos HLA-DR4, que se divide en cinco sub tipo (Dw4,Dw10,Dw13,Dw14 yDw15) y HLA-DR1,¹⁵ esta interacción entre las células T y los antígenos ocasionan la sinovitis, donde se desarrolla una red de vascularización que es inducida por los macrófagos y mediada por las citoquinas, entonces el endotelio de estos nuevos vasos envían activadores de plasmaminógeno y metaloproteínas para la nutrición de

estas células y así puedan proliferar. Los linfocitos viajan por estos nuevos vasos adhiriéndose al endotelio de las venas sinoviales, los IFN- γ , las IL-1 y TNF- α , pasan por las paredes de los capilares formando agregados. Los linfocitos B activados por los linfocitos T mediante las IL-2 comienzan la secreción de auto-anticuerpos contra la porción Fc de la Ig G llamada factor reumatoide que estudios han demostrado que contribuyen a la sinovitis⁵. Otros estudios han encontrado en los isótopos alfa, beta, gamma y épsilon de las Ig puede formar complejos grandes y precipitar en la superficie del cartílago y dar origen a la formación del pannus formado cuando las células sinoviales, las células inflamatorias y proteínas se proliferan por la sinovia, ocasionando la destrucción del tejido y la erosión del cartílago.¹⁶

Existen muchos modelos animales de artritis que son usados por tener similitud con la artritis humana, que por cuestiones de ética estudios que impliquen la mutilación de parte de las articulaciones sería imposible realizar en individuos con la enfermedad. Uno de los modelos más utilizados es el de artritis inducido por colágeno tipo II (CIA), donde las ratas desarrollan una poliartritis. La inmunoreactividad por colágeno tipo II se puede ver en la AR humana por lo que varias características se encuentran en el modelo CIA cepa knockout haplotipo MHC. Esto se debe a la susceptibilidad asociada al gen MHC clase II lo que nos demuestra que este gen es importante para el desarrollo de la enfermedad. Gracias a este modelo se ha demostrado que el bloqueo de la TNF- α , como el bloqueo de IL-1 ocasiona un retroceso de la enfermedad. Como ya se mencionó anterior mete estos estudios no se pueden realizar en humanos, y gracias a este modelo se pueden realizar ensayos clínicos para el tratamiento de esta enfermedad.^{17,18}

2.3 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones más comunes al inicio se dan en más del 50% de los casos observándose una relación de 1:2 a 1:4 donde los hombres se ven menos afectados que las mujeres ^{4, 12,19}. Los síntomas pueden ser sistémicos o articulares, en muchos de ellos el dolor general, fatiga, en algunos casos malestar a nivel de las articulaciones como la rigidez articular o debilidad articular, estos se pueden dar en semanas o meses. Las manifestaciones más agudas se puede dar entre 8 a 15% de la población afectada donde la AR se puede evidenciar en tan solo días con dolor profuso en las articulaciones volviéndolas rígidas e impedimento el movimiento.^{4, 12}, y en el 15 al 20% de la población el inicio de la enfermedad puede ser con manifestaciones intermedias a la enfermedad ⁴. Al inicio de la enfermedad, las zonas que se ven más comprometidas son los falanges, muñecas, para luego darse en articulaciones de mayor amplitud, pero hay casos especiales donde las articulaciones pueden presentar poliartritis en las articulaciones de las manos ocasionando destrucción, también comprometiendo las articulaciones metacarpianas ^{12,21}. Otras manifestaciones pueden ser los pacientes que no desarrollan nódulos subcutáneos donde el FR y los anticuerpos no se encuentran presentes, lo que se observa es eritrosedimentación acelerada, linfocitosis, y neutrofilia, la forma palindrómica donde la inflamación puede darse solo en una articulación aumenta en cuestión de horas ^{4,12}. Cuando la enfermedad ya se está desarrollando, se caracteriza por el retroceso de las afecciones a pocas articulaciones. Esto le suceda entre el 20 al 30% de los pacientes, otro grupo de pacientes tiene un apaciguamiento de la enfermedad de manera prolongada entre 10 a 30 años, por último hay un grupo de pacientes que no corren con la misma suerte y desarrollan la enfermedad de manera progresiva que puede terminar en invalidez porque hay destrucción de huesos.

El compromiso puede ser de dos formas: los particulares que comprometen desde las manos hasta los pies, por otro lado tenemos al compromiso extra articular que pueden ser cutáneas, nódulos reumáticos, neuropatías,

compromiso pulmonar, cardíaco, ocular, vasculitis, síndrome de Felty y síndrome de Sjögren.^{4, 12,21, 22}

2.4. Diagnóstico clínico para Artritis reumatoide

El diagnóstico de la AR es importante realizar en una fase inicial. Cuando la enfermedad ya está establecida, consiste en ver la historia clínica y comprobar si hay sinovitis como mínimo 6 semanas, con cuanta frecuencia se manifiesta el dolor, la simetría de la articulación, si el tratamiento con AINEs produjo un alivio y el estudio de las articulaciones comprometidas, por otro lado se debe tomar en cuenta las manifestaciones extra articulares como disnea, problemas oculares.²³

Como se menciona anteriormente es muy importante el diagnóstico en la etapa inicial de la enfermedad para que así se pueda evitar la erosión del cartílago y hueso. En caso que la enfermedad esté en progreso, los criterios para el diagnóstico son ²⁴:

1. Rigidez matutina que dure más de una hora.
2. Artritis de 3 o más articulaciones.
3. Artritis de las articulaciones de las manos.
4. Artritis simétrica.
5. Nódulos reumatoides.
6. Presencia de factor reumatoide.
7. Alteraciones radiológicas compatibles.

Los criterios 1 a 4 deben estar presentes por lo menos 6 semanas y los criterios 2, 3,4 son a criterio del médico ²⁴

Para el diagnóstico también es necesario recurrir a pruebas de laboratorio, como las pruebas de sangre donde se puede encontrar trombocitosis, leucocitosis y eosinofilia. La eritrosedimentación que se puede ir exacerbado en más de 30 mm/hora, las proteínas C reactiva (PCR) también pueden estar elevadas, el factor reumatoide, Inmunoglobulina M (Ig M) presente en más del 80%, se pueden medir por látex o Waaler Rose, otros

indicadores son la presencia de alfa 1 y alfa 2 globulinas, la presencia de inmunocomplejos, anticuerpos antinucleares, crioglobulinas, entre otros.⁴
¹². La presencia de CMH, HLA clase II, DR4, DR, entre otros. Por otro lado, la toma de muestra del líquido sinovial tiene un color xantocrómico por la presencia de hematíes y el aumento de leucocitos en más de 5000 mm³ donde lo polimorfonucleares (PNM) son mayoría.¹² La radiología se realiza para poder ver el avance de la enfermedad en donde se puede observar los cambios, otros exámenes pueden ser gammagrafía, las ecografías para examinar partes blandas extra articulares, tomografías y resonancias magnéticas. Para el diagnóstico es muy importante la historia clínica donde se tienen que manifestar los síntomas como rigidez, dolor, etc, para que así se pueda hacer un diagnóstico diferencial de otras enfermedades que pueden confundirse con la Artritis reumatoide, siendo las más comunes pueden ser Osteoartritis, Gota, etc.¹²

2.5. Epidemiología de la Artritis Reumatoide

La AR afecta aproximadamente al 1% de la población⁴, es una enfermedad reumática que no tiene un patrón homogéneo. Desde 1958 The American Rheumatism Association propuso los primeros criterios de evaluación y diagnóstico para los pacientes que sufren de esta enfermedad²⁵. Esta pueden darse por diversos factores como la edad, sexo, peso, raza, el material genético, adicional a estos factores propios de cada individuo, el medio ambiente juega un papel importante en el desarrollo de la artritis reumatoide y en algunas ocasiones podría darse por un agente infeccioso (como es el caso de la artritis infecciosa o reactivas). Las enfermedades reumáticas están entre las causas más comunes de mortalidad en la población adulta²⁶. La AR está ampliamente distribuida por lo que no hay ningún grupo étnico que esté excluido. Puede manifestarse a cualquier edad pero se puede observar que hay un aumento de la enfermedad entre los 40 - 60 años.^{4,25}

El factor genético, la heredabilidad de AR es poligénica y no sigue las patrones leyes mendelianas³, por lo cual es la prevalencia de la

enfermedad en personas de una misma familia conocida como agrupamiento familiar. Según el doctor P. Stastny existe una relación entre la AR y HLA-DR (antígenos específicos leucocitarios humanos) del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Las HLA cumplen la función de llaves por medio de las células presentadoras de antígenos (APC) al presentar al antígeno con las células T, las cuales dan la señal inicial para que la respuesta inmune adaptativa o específica se origine, en la actualidad se cree que la AR es de tipo mutagénica y que el sistema HLA puede representar el 40% del componente genético que está asociado con esta enfermedad ^{5,27}. Por lo general, la manifestación de esta enfermedad se da en parientes más cercanos es de 0.24% al 1% ³. Entre gemelos monocigotos (los que son genéticamente idénticos) existe una concordancia con la artritis reumatoide de 12 a 15% ²⁵, en otros estudios se dice que tienen una concordancia entre 15-30% ³, a diferencia de los gemelos dicigóticos y hermanos de pacientes afectados es entre 2 a 4% ⁴⁶ y otros estudios dicen 5 a 10 % ³. Existen otros factores como los hormonales como ya se mencionó, las mujeres están entre uno a cuatro veces más propensas a sufrir de esta enfermedad en relación en los hombres ^{4,25}. Una de las razones podría deberse al estrógeno que tiene un efecto estimulante sobre el sistema inmune ⁴ ocasionando que este inhibe la función de los linfocitos T y estimulando la maduración de los linfocitos T helper ^{28,29}, pero las manifestaciones de esta enfermedad puede variar con las diferentes etapas del ciclo reproductivo ⁴. Diversos estudios han observado que los anticonceptivos actúan como protección del desarrollo de esta enfermedad, en caso de embarazo las mujeres que tiene AR ven aliviados sus síntomas pero esto no dura mucho porque en la fase de post parto los síntomas se exacerba ⁴. Otros factores son los ambientales como el clima, que de manera empírica se piensa que los síntomas de la AR pueden empeorar en determinadas condiciones como en climas fríos y húmedos, pero se realizaron estudios de la prevalencia de AR en lugares tropicales como Jamaica y Puerto Rico cuyos resultados arrojaron que la prevalencia de esta enfermedad no es significativamente diferente de países Europeos y del Norte de América como Alaska ^{30,31}. El cambio climático podría tener algún papel en el aumento de la sintomatología de

la enfermedad por el aumento de las temperaturas y el aumento de la humedad ³². Otro factor ambiental es el consumo del tabaco se asoció significativamente con el aumento y la manifestación de la enfermedad porque podría ocasionar que la destrucción articular sea mayor, porque se asoció a la mayor producción de FR. (factor reumatoide) ^{4,33}

La AR es una enfermedad que provoca la disminución de la actividad física, laboral, las interacciones sociales, incrementado así el estrés psicológico en los que la padecen. Además, la expectativa de vida se encuentra en 3 a 18 años. Las principales causas de mortalidad son los problemas cardiacos, afecciones renales, infecciones, estrés entre otros. La AR es muy agresiva, se va agravando con un diagnóstico tardío, además la mortalidad en personas que sufren esta enfermedad es mayor entre 3 a 18 años. ³⁴.

Al verse afectada las funciones físicas y psicológicas se produce un aumento de costo de vida, ya que el afectado deberá adaptarse desde el inicio de la enfermedad a la reducción de sus facultades. Se sabe que entre los 10 años del inicio, de la enfermedad más de la mitad de las personas afectadas presentara la disminución física grave, después de los 15 años solo el 40% se desempeñan laboralmente. ³⁵. El costo que implica tratar a un paciente con esta enfermedad es tres veces más que una persona sana, además de mayor esfuerzo en la hospitalización del paciente ³⁴. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) se dice que la AR tiene una prevalencia entre 0.3% y 1%, donde los resultados positivos son 41 pacientes de 100,000 casos. En muchos países de América, esta enfermedad es catalogada como un problema de salud pública, un ejemplo de ello es México, donde tiene una prevalencia de 1.6% generando un impacto socioeconómico, el gasto médico anual es de aproximadamente \$2,334 dólares y de los pacientes \$610 dólares. Es por eso la importancia del diagnóstico temprano para un tratamiento más eficaz y así no limitar al paciente en su vida laboral y social. ³⁶

En el Perú se brinda atención a nivel primario, pero si los casos son más complejos el tratamiento se realiza en hospitales especializados y que cuentan con la tecnología adecuada como el Hospital Nacional Guillermo Almenara. En el 2004, este hospital contaba con 13 centros de atención que comprendía de una posta, dos centros médicos, cuatro policlínicos, dos hospitales de atención nivel I, dos de atención nivel II y uno de atención nivel III. Se realizó un estudio en 2740 pacientes donde se encontró que la edad media era 54 años aproximadamente. Se observó que las manifestaciones extra- articulares fueron de un 61.72% donde la queratoconjuntivitis y nódulos reumáticos fueron los más comunes. En los países en desarrollo la epidemiología es muy poco estudiada por lo que se usa el modelo establecido por la Organización Mundial de la Salud y la Liga Internacional de Asociaciones de Reumatología llamada COPCORD con el cual se podría tener herramientas para prevenir y controlar esta penosa enfermedad. Este modelo tiene tres fases. La primera es la recolección de información de las comunidades en, la segunda fase se debe dar capacitación tanto a las comunidades como al sector salud de atención primaria, y en la tercera fase se establecen programas de prevención observadas en las primeras fases.⁵

2.6. Tratamiento de la artritis reumatoide

La AR es una enfermedad muy compleja, por esta razón su tratamiento tiene un alto costo, es un enfermedad inflamatoria crónica, por lo tanto los principales tratamientos buscan la disminución del dolor, el daño articular y aumentar la capacidad funcional de las extremidades.²²

Los tratamientos para esta enfermedad dependerán de la característica y la evolución de la misma²², si la detección es temprana se puede aplicar antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD);⁴ los Fármacos Modificadores de la enfermedad (FAME), los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y corticoides.²³

Entre los cuales se encuentran el Metotrexato (MTX), Leflunomida y Sulfasalizina, también están los fármacos como Anakinra que es un antagonista de las IL-1 ²³

2.6.1. Tratamiento clásico

El tratamiento convencional consiste en disminuir la inflamación y amenorar el deterioro de las articulaciones, por lo cual los medicamentos que pueden modificar los efectos de la enfermedad son los llamados FAME: el Metotrexato (MTX), Leflunomida y Sulfasalacina. Es importante un diagnóstico temprano ya que si estos fármacos son administrados en las primeras etapas de la enfermedad los síntomas y desarrollo de la enfermedad es menor. ²⁵

2.6.2. Antirreumáticos moduladores de la enfermedad: Metotrexato, Sulfasalacina y Leflunomida.

Estos fármacos han sido sometidos a ensayos clínicos demostrando tener una acción rápida y efectiva.

En el caso de Metotrexato puede actuar como inmunosupresor, se usa por la vía intramuscular, subcutánea y también oral en dosis menores a 25mg por semana ²². Las Sulfasalacina inhiben las funciones de los neutrófilos, reducen los niveles altos de inmunoglobulinas, y disminuyen la función de los linfocitos T. Las Leflunomida es un inmunomodulador enzimático. ²³

2.6.3. Terapia biológica en la Artritis reumatoide

La terapia biológica consta de anticuerpos Ig G que se pueden conseguir mediante el ADN recombinante. El mecanismo de acción es tener un efecto antagonista del factor de necrosis tumoral, disminuyendo los procesos inflamatorios, la destrucción y reabsorción del tejido osteoarticular.²³

Se clasifican en, Infliximab, Adalimumab y Etanercept, los dos primeros son anticuerpos monoclonales anti TNF y el último es un receptor de TNF.²³

2.7. Terapias alternativas para el tratamiento de AR

Muchas de las terapias alternativas son tratamientos que no tienen los ensayos adecuados a diferencia de los tratamientos convencionales, pero hay muchas áreas que han sido poco estudiadas y que se deben estudiar para comprobar su efectividad.³⁷

Las terapias alternativas son empleadas entre 28 a 90 % por personas con enfermedades reumáticas, como ayuda a los tratamientos convencionales sugeridos^{37,38}. Algunas terapias alternativas pueden ser la dieta, factor importante en el control de una enfermedad. La ciencia está poniendo más atención en el tipo de alimentación ya que se necesita de cantidades adecuadas de proteínas, carbohidratos, grasas, minerales y vitaminas. Otra terapia alternativa puede ser la ingesta de suplementos vitamínicos. Para controlar sus síntomas, algunos estudios estiman que 18.4% de personas con la enfermedad usaron medicina tradicional (plantas medicinales)³⁷. El sulfato de glucosamina y el sulfato de condroitina son usados como tratamiento alternativo desde la década de los 80's esto debido a que el sulfato glucosamina es el precursor de glucosaminoglucano y el sulfato de

condroitina es el glucosaminoglucano más abundante en el cartílago algunos estudios sugieren que la glucosamina puede ser un agente modificador de la enfermedad ³⁷, pero otros estudios dicen que solo puede tener un efecto placebo. La dehidroepiandrosterona (DHEA) es un esteroide andrógeno ³⁷ que también puede ser empleado como tratamiento alternativo para la artritis, pero su uso a largo plazo puede aumentar el riesgo de desarrollo de cáncer ³⁷. También, existen terapias poco ortodoxas como la acupuntura, terapia muy usada en la medicina tradicional china que consiste en la aplicación de agujas en la piel (transcutáneas) en puntos específicos para el alivio del dolor producido por la enfermedad. Otros pueden ser la quiropráctica, la terapia con imanes, terapia de movimientos y masajes, también tenemos las terapias de meditación. ³⁷

2.7.1 *Ulomoides dermestoides* “Gorgojo del Maní”

Los insectos son uno de los grupos más diversos del reino animal. Poseen un esqueleto externo quitinoso con los apéndices articulados que están divididos en cabeza, tórax y abdomen, se caracterizan por tener, una cabeza con 6 segmentos, un par de apéndices en la cabeza a manera de antenas y otros que forman la boca, su tórax posee 3 segmentos que están fusionados cada uno con un par de patas, tienen 2 pares de alas, tienen un sistema circulatorio abierto, respiran a través de las aberturas traqueales, pueden tener ojos simples o compuestos, se reproducen por huevos fértiles o por partenogénesis, experimentan metamorfosis.

El número de Coleópteros que se han descrito son alrededor 360.000 y 400.000 especies convirtiéndolo en el orden animal más diverso, siendo sus principales características sus élitros (un par de alas endurecidas). Para la protección de su par de alas membranosas, su cuerpo es rígido con

diversas formas haciendo que este orden sea versátil en cuanto a su diversidad de hábitat.^{39, 40,41}

La familia Tenebrionidae es considerada muy importante porque muchas de sus especies son plagas para muchos granos como maíz, trigo, avena y arroz, entre otros. Es oriundo de China y el Sudeste Asiático, llegando hasta Latinoamérica donde es usado como un tratamiento alternativo llamado Coleópteroterapia.^{10, 42}

El gorgojo del maní tiene una clasificación taxonómica:

Reino: Animalia.

Sub Reino: Eumetazoa.

Rama: Bilateria.

Grado: Coelomata.

Serie: Protostomia.

Phylum: Artropoda.

Subphylum: Mandibulata.

Clase: Insecta.

Subclase: Holometabola.

Orden: Coleoptera.

Suborden: Polyphaga.

Familia: Tenebrionidae.

Género: Ulomoides.

Especie: *Ulomoides dermestoides*.

2.7.2. Descripción del Gorgojo del maní

a) Huevos

Los huevos son de color blanquecino, luego se torna transparente, tiene una forma oblonga cuya longitud es alrededor de 0.82 mm. (Figura 1) ⁴²

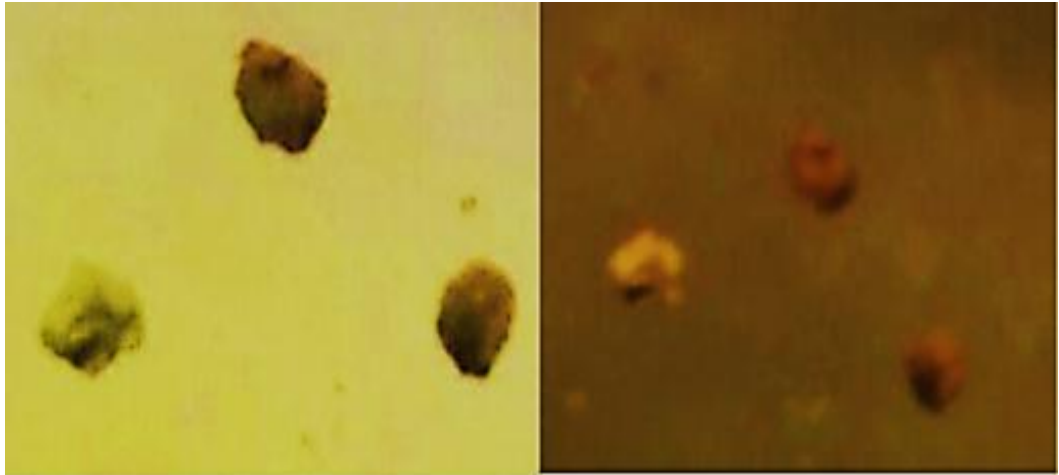


FIGURA 1. Huevos de *Ulomoides dermestoides*, que se de color blanquecino, cuyo tamaño es menos a 1mm, tomada con un estereoscopio fuente: fotografía de Katherine Campos Perez

b) Larva

Las larvas tienen un cuerpo alargado llamada elateriformes, que pueden llegar a tener un tamaño entre 1-11 mm, son de color marrón claro o amarillo, tienen un cuerpo segmentado esclerotizado, ver figura 2 ^{42,43}



FIGURA 2. Larva de *Ulomoides dermestoides*, a diferentes estadios de crecimiento tomada con un estereoscopio fuente: fotografía de Katherine Campos Perez.

c) Pupa

La pupa de tipo exarata (pupa libre ya que todas las partes de la pupa pueden ser diferenciadas, como las antenas, las piezas bucales, patas y las alas están libres). Además, poseen dos ojos bien desarrollados en la parte anterior - ventral, están segmentadas y cada uno de los segmentos tienen dos proyecciones laterales (figura 3). En la parte posterior de su abdomen contiene un par de urogonfos (que es una estructura en la parte lateral del abdomen en forma de ganchos) las diferencias sexual del *Ulomoides dermestoides* se puede observar en la parte posterior. Los apéndices genitales en el caso de los machos se observan dos protuberancias globulares (figura 4), por otro lado las hembras presentan dos protuberancias mucho más pronunciadas en punto (figura 5) ^{42,43}



FIGURA 3. La Pupa de *Ulomoides dermestoides* donde se observar los ojos bien desarrollados tomada con un estereoscopio fuente: fotografía de Katherine Campos Perez



FIGURA 4. Las Papilas genitales del macho del coleóptero *Ulomoides dermestoides*, por la parte posterior de la pupa tomada con un estereoscopio fuente: fotografía de Katherine Campos Perez.

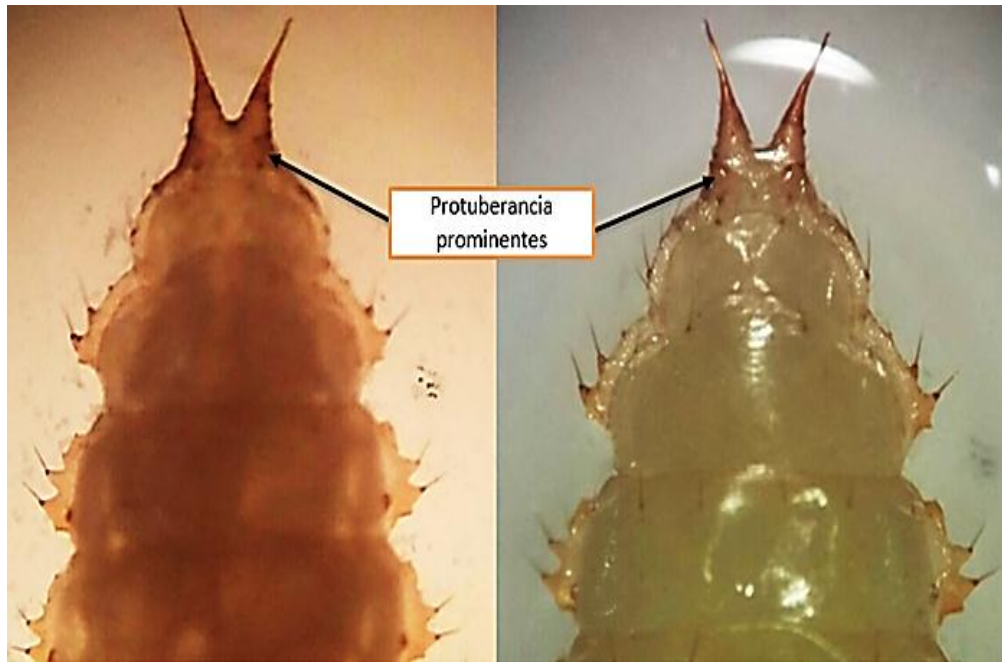


FIGURA 5. Las Papilas genitales de la hembra del coleóptero *Ulomoides dermestoides*, por la parte posterior de la pupa tomada con un estereoscopio fuente: fotografía de Katherine Campos Perez.

d) Adulto

La forma adulta es de tipo oblonga y aplanada, la cabeza tipo prognata (coincide con el eje longitudinal del cuerpo y sus piezas bucales se dirigen hacia adelante). Miden aproximadamente 5 mm de largo y 1mm de ancho, sus antenas tienen flagelos marcados, con ojos compuestos fáciles de diferenciar. Su aparato masticador es muy fuerte típico de los coleópteros. Los élitros son longitudinales estriados, y sus patas están desarrolladas, su abdomen es bien diferenciado por segmentos, cuando son jóvenes tienen un coloración café y cuando son más adultos pueden ser de color negro (figura 6).⁴²



FIGURA 6. Coleóptero adulto del *Ulomoides dermestoides*, por la parte anterior y posterior tomada con un estereoscopio fuente: fotografía de Katherine Campos Perez

Cuando el coleóptero *Ulomoides dermestoides* es adulto presenta un abdomen dividido por 6 segmentos en el último de estos se forma una placa alargada y dura llamada placa subgenital que tiene una membrana que se modifica formando hasta un octavo segmento que puede replegarse es en este lugar donde se encuentra el ovipositor, en caso de las hembras terminan en dos cerdas ^{42,43}, y en los machos está modificado para terminar en punta para que facilite la cópula ^{42, 43,44} (figura 7)



FIGURA 7. Aparato genital de *Ulomoides dermestoides* hembra donde se observa dos bifurcaciones en la parte terminal tomada con un estereoscopio fuente: fotografía de Katherine Campos Perez

2.7.3. Ciclo de vida del *Ulomoides dermestoides*

El ciclo de vida del *Ulomoides dermestoides* puede tomar entre 67 a 68 días en laboratorio, las hembras, pero diversos estudios han reportado que esto depende de la temperatura y la humedad. Como es característico en los insectos su metamorfosis es completa también llamada holometábola, consta 4 etapas que son huevos, larva, pupa y el adulto. La primera fase tenemos a los huevo la cual dura aproximadamente entre 3-4 días pero como se dijo anteriormente dependerá de la condiciones ambientales como el estudio realizado por el entomólogo Dr. Yoshida el cual dice que el tiempo de incubación es entre 5 a 9 días ⁴³, en la segunda fase es la formación de la larva que tiene 7 estadios de crecimiento tardando en total entre 59 a 61 días siendo los dos últimos estadios los más largos, como tercera fase tenemos a la pupa la cual tarda aproximadamente 4 a 5 días y como fase final tenemos al adulto que se lleva entre 4 a 5 días. (Figura 8) ^{43,44}

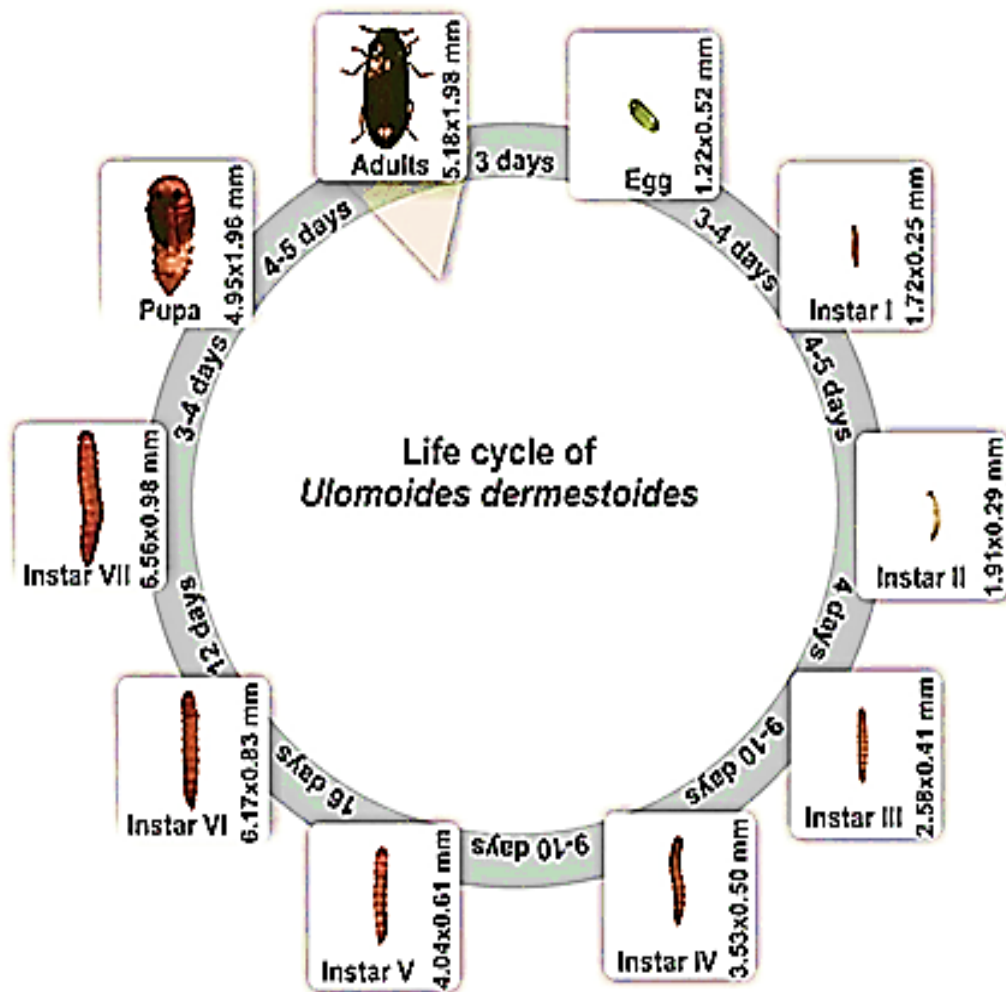


FIGURA 8. Ciclo de vida del *Ulomoides dermestoides* "gorgojo del maní" comprenden 67.6 días y consta de cuatro etapas: 1) huevo, 2) larva (siete instares), 3) pupa y 4) adulto., tomada de Jennifer Morillo, 2016⁴³

2.7.4. Alimentación

Diversos estudios han demostrado que los *Ulomoides dermestoides* tiene un mayor éxito cuando son alimentados con cáscaras o semillas. Estos insectos son utilizados para tratamientos alternativos contra muchas enfermedades por lo que las personas que utilizan a estos coleópteros recomienda alimentarlos con pan de molde (integral), germen de trigo mezclándolos con cáscara de plátano o de manzana dos veces por semana.

42,45

2.7.5. Tratamiento empírico con el *Ulomoides dermestoides*

La ingesta de *Ulomoides dermestoides* es conocido como coleopteroterapia, una práctica muy usada en la medicina tradicional en países Asiáticos y latinoamericanos para tratar afecciones como el cáncer, asma, artritis reumatoide u otros procesos inflamatorios y enfermedades renales. Este tratamiento alternativo consiste en ingerir entre uno a setenta y cuatro coleópteros, las personas que lo consumen explican que el primer día se debe tomar un insecto, el segundo día dos coleópteros así sucesivamente hasta que en el último día se tomarán los setenta y cuatro coleópteros de golpe, y se repetirá el proceso desde los setenta y cuatro hasta el día final que se tomara solo un insecto. Luego de finalizar este proceso se descansa dos semanas para volver a reiniciar el tratamiento. ^{10,}

42,46

3. HIPÓTESIS

El tratamiento con el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* no es tóxico y tendrá un efecto antiinflamatorio sobre la artritis inducida por colágeno tipo II en el modelo in vivo ratas macho cepa Lewis.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal

Determinar la actividad tóxica aguda y el efecto antiinflamatorio sobre la artritis inducida por colágeno tipo II en el modelo animal ratas macho de la cepa Lewis (MHC haplotipo RT1) del pulverizado seco del coleóptero *Ulomoides dermestoides*.

4.2. Objetivos específicos

- Preparación de pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* en una solución de Carboximetil celulosa al 5%.
- Determinar la toxicidad aguda oral (Dosis letal media) del pulverizado seco de *Ulomoides dermestoides*
- Determinar el efecto antiinflamatoria evaluando el grado de inflamación en las articulaciones de ratas macho inducidas con colágeno tipo II con el pulverizado seco de *Ulomoides dermestoides*.
- Determinar el efecto antiinflamatorio evaluando el tejido sinovial a través de scores en las ratas macho cepa Lewis con artritis tratadas con el pulverizado *Ulomoides dermestoides* y las ratas macho con artritis no tratadas.
- Determinar el efecto antiinflamatorio evaluando el grado de erosión de hueso a través de scores en las ratas macho cepa Lewis con artritis

tratadas con el pulverizado *Ulomoides dermestoides* y las ratas macho con artritis no tratadas.

- Realizar el análisis proximal para determinar el contenido proteico y calorífico del *Ulomoides dermestoides*.

5. JUSTIFICACIÓN

Ulomoides dermestoides es un coleóptero cuyo ciclo de vida es corto obteniéndose un número considerable en poco tiempo, además su reproducción es rápida y el costo de alimentación y mantenimiento es bajo. Estos animales son consumidos de manera empírica, siendo esta terapia conocida como “coleopterapia” por muchas personas. El presente trabajo se realizó con el fin de dar a conocer si estos insectos tienen efecto tóxico y antiinflamatorio y así poder evidenciar esta terapia alternativa para mejorar la calidad de vida de las personas que sufren de Artritis reumatoide, debido a que el tratamiento con los fármacos convencionales tiene un costo muy alto.

Por otro lado, el tratamiento de Artritis reumatoide uno de los fármacos más conocidos es el Metotrexato que puede causar efectos adversos en la salud de las personas que lo consumen, un ejemplo de ello es el daño hepático y renal. Por esta razón este trabajo busca encontrar una alternativa para el tratamiento y así mejorar la calidad de vida de las personas que padecen esta penosa enfermedad.

6. MATERIALES Y MÉTODO

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios: Laboratorio Servicio Control de Calidad-Laboratorios de investigación y Desarrollo, Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales in Vitro, Laboratorio de Inmunología 108 de la Facultad de ciencias y Filosofía ,LID de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

6.1. Materiales

Termo higrómetro. (Control Company EQ-TX-20) Batidor Magnético (Magnetic stirrer), Vernier MARCA Caliper y calibrado por la empresa etalon s.a.c, Cámara fotográfica marca Canon EOS Rebel T4i, Estufa THELCO, Balanza KERN, Balanza Pioner TM analítica, Vortex Mixer model VM-1000, Estereoscopio stemi DV4, Pro pipeta EPENDORF, Micropipeta EPPENDORF 10, 200,1000 ul, Pipetas graduadas Fortuna Germany de 1 y 10 ml, jaulas de polipropileno con tapas de acero inoxidable, Bebederos, Alimento balanceado para ratas de la Universidad agraria la molina, Viruta de pino procesada, Matraz CES, Jeringas de 1ml, Sonda nasogástrica de acero inoxidable para administración oral, Equipo de disección , Frascos de vidrio.

6.1.1. Reactivos

Colágeno tipo II de bovino (Fco x 5 mg) código (código C7806 sigma), Adyuvante incompleto de Freund (Vial X10ml (código F5506 sigma), Ácido acético, Carboximetil celulosa

6.2 Diseño de estudio

6.2.1 Operacionalización de variables

Las variables para el presente trabajo están descritas en la Tabla 1.

Tipo de variables	Variables	Dimensiones	Indicadores
Variable independiente	Pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	Tratamiento de la Artritis reumatoide en el modelo animal ratas macho cepa Lewis mediante Pulverizado del coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i>	Dosis 1000 mg/kg 500 mg/kg 250mg/kg
Variable independiente	Determinación de la Toxicidad aguda oral (DL ₅₀), Método de clases (Anexo 2d), norma OECD test 423.	Evaluación de la DL ₅₀ en ratas cepa Lewis inducidas por colágeno tipo II.	Dosis 2000 mg/kg
Variable dependiente	Efecto del pulverizado de coleóptero <i>Ulomoides dermestoides</i> en las articulaciones anteriores y posteriores del modelo animal ratas macho cepa Lewis	Tipo: nominal Semiquantitativa Medición de la inflamación mediante, la presencia de células inflamatorias en el líquido sinovial mediante la tabulación de los scores. Ver tabla 4 y el grado de erosión en el hueso mediante los scores. ver tabla 5	Duración 6 semanas

Tabla 1. Variables independientes y dependientes del estudio con el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides*.

6.2.2. Tamaño de la muestra

Se procedió con el cálculo del tamaño de los grupos experimentales, el cual dio un valor de 7 ratas por grupo, como se muestra en la formula abajo indicada. ⁴⁷

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2}$$

$$n = (1.96^2 * 0.99 * 0.01) / 0.075^2$$

$$n = (3.8416 * 0.0099) / 0.075^2$$

$$n = 6.76088$$

$$n = 7$$

n= número de ratas

Z α = seguridad del 95%

p= proporción esperada 99%

q= 1-p

Para la selección de grupos se tomó como referencia que sean ratas albinas (Rattu albinus) macho cepa Lewis, cuyo peso corporal estaba entre 200 g a 300 g, con una edad estimada de dos a dos meses y medio

Para la exclusión de grupos se tomó como referencia que las ratas albinas sean hembras o que estuvieran en proceso de gestación, que las ratas no fueran usadas en otros estudios y que presentaran algún síntoma de enfermedad o deficiencia.

6.3. Crianza de los coleópteros *Ulomoides dermestoides*

La colecta fue realizada en septiembre del año 2011 en el distrito de Pozuzo de la provincia de Oxapampa ubicado en el departamento de Pasco, para luego ser llevados al Laboratorio de Cultivos Vegetales in vitro del LID en la Universidad Cayetano Heredia. Fueron clasificados por la Entomóloga Paola Dioses Núñez de la Universidad Peruana Cayetano

Heredia. Estos animales tienen mejor actividad reproductiva si se encuentran en frutos abiertos como cáscara de plátano y pan integral.^{42,48}

6.4. Animales de laboratorio

Se utilizaron 51 ratas machos cepa Lewis (Dr. Lewis, 1950), los cuales derivaron de animales que fueron importados de EEUU (Laboratorio, Charles River), ya que estos animales de esta cepa no se encuentran disponibles en Perú, debido a que es un modelo animal experimental (MHC haplotipo RT¹) y este modelo ha demostrado gran susceptibilidad al desarrollo de artritis aguda seguida de artritis progresiva y erosiva, que es similar a los cuadros de artritis reumatoide en humanos,⁴⁹ se mantuvieron en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia partiendo de dos machos y tres hembras de 3 meses.

Para su aclimatación al nuevo entorno, donde se mantuvieron un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de noche, con la temperatura y humedad adecuada (22° C y 70%), para su alojamiento se usaron 12 jaulas donde se colocaron de 3 a 4 ratas por jaula para su mayor comodidad y adecuado manejo. Tuvieron agua ad libitum y alimento balanceado en pellets para roedores proveniente de la Universidad Agraria de la Molina. La tabla de composición de valor nutricional se encuentra anexo 2. El estudio cumplió con los estándares requeridos por el Comité Institucional de Ética para el uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con el código de inscripción n°100745.

6.5. Evaluación Biológica

6.5.1. Preparación del pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides*

Para la preparación del pulverizado del coleóptero se escogió a los adultos con el color más oscuro (la cantidad fue variada porque está en función a la dosis y peso de los animales en cada grupo), luego se sacrificaron a los

insectos vertiéndose agua caliente, posterior a esto se pasó a secar a los insectos en una estufa a 40°C, para luego realizar la trituration con la ayuda de un mortero, por último se mezcla con Carboximetil celulosa al 5% ²⁸ que es un aditivo alimentario inocuo que solo busca una mejor adhesión de las partículas trituradas para que puedan ser absorbidas de mejor manera por los animales. Este proceso se repitió durante todo el tiempo que duró el tratamiento (aproximadamente 22 días) ⁴⁸

6.5.2 Prueba de toxicidad aguda oral del pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides*

La prueba de Toxicidad aguda vía oral (DL50) ⁵¹ del pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides*, se realizó siguiendo los procedimientos descritos en el protocolo OECD- TEST 423 – método de clase (anexo 4 (2d)), para determinar si la muestra era tóxica, esto formó parte importante en todo estudio.

Se llevó a cabo el control del peso corporal de los animales antes del inicio del tratamiento, como al finalizar el mismo (14 días)

El ensayo (con una repetición) con tres ratas cada una tuvo un peso promedio 200 a 300 gr de 8 - 12 semanas y un grupo control con las condiciones óptimas siguiendo los protocolos de control de calidad (12 horas luz y 12 horas oscuridad). El área de trabajo estuvo a 22°C y 70% de humedad, se emplearon tres ratas por grupo. La dosis para el ensayo fue de 2000 mg/kg de peso corporal de rata ⁵¹. El volumen de administración del pulverizado fue de 1 ml El tiempo de observación para ver si hay mortalidad, fue de 14 días donde en las primeras 72 horas las ratas fueron monitoreadas constantemente. Los grupos ensayados se muestran en la tabla 2.

Grupo	Número de animales	Dosis del pulverizado de coleóptero (1mg /kg de rata)
1	3	2000
2	3	2000 (repetición)
3	3	control

*Tabla 2. Prueba de toxicidad aguda oral del pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides*.*

6.6. Inducción de artritis reumatoide en ratas macho cepa Lewis

Para la inducción de artritis reumatoide se hizo la aplicación del antígeno (solución de colágeno tipo II de bovino X 5 mg (código C7806 sigma), ya que es un modelo experimental susceptible al colágeno tipo II. Las ratas cepa Lewis hicieron una reacción autoinmune en contra de colágeno ⁵², también se necesitó adyuvante incompleto de Freund 10 ml (código F5506 sigma), que aumenta la respuesta inmune. ^{51,53}

Previo a la inducción de artritis reumatoide se hizo la dilución del colágeno tipo II de bovino 5 mg en 5 ml de ácido acético 0.01 molar y se conservaron a - 20°C. Luego, se mezcló con el adyuvante incompleto de Freund en partes o volúmenes iguales obteniéndose una emulsificación ^{55,54}. Todo el proceso se realizó sobre una cama de hielo para evitar la desnaturalización de los reactivos.

Se usaron cuarenta y dos ratas macho de la cepa Lewis, las cuales fueron distribuidas como se indica en la tabla 3.

Grupo	Número de animales	Dosis	Volúmenes de inducción (ul)
1	7	Control
2	7	Control MTX	100
3	7	Control CIA	100
4	7	(UD1000 mg/kg)	100
5	7	UD 500 mg/kg	100
6	7	UD 250mg/kg	100

Tabla 3. *Distribución de grupos inducidos para el tratamiento con el pulverizado de Ulomoides dermestoides.*

La inoculación se realizó por vía intradérmica un volumen de 100 ul de la emulsificación en la base de la cola. El tiempo de inducción de la artritis reumatoide fue de 3 semanas donde se hizo el seguimiento utilizando un registro de scores de inflamación con valores de evaluación entre 0 a 4. (Ver tabla 4)

Score de inflamación	Interpretación
0	no presenta nada (hinchazón o enrojecimiento de la piel)
1	hinchazón o inflamación de un dedo de la articulación
2	hinchazón de dos articulaciones dos dedos
3	hinchazón en más de dos articulaciones
4	artritis severa en la pata completa

Tabla 4. *Scores de inflamación de las ratas inducidas con colágeno tipo II.*

Estos score ya se han evaluado anteriormente en otras publicaciones, son variable semicuantitativas ^{54,55}

Adicionalmente se midió el grosor de las patas anteriores y posteriores con la ayuda del vernier.

6.7. Tratamiento con el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides*

Para el tratamiento con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* se separaron a los animales en cinco grupos de siete animales cada uno ⁴². El primer grupo fue en grupo control CIA, al cual solo se le dio el Carboximetil celulosa al 5% como placebo 1 ml/ kg. Al segundo grupo denominado control inducido MTX se le administro 0.2 mg/kg de Metotrexato un antirreumático conocido, dos veces por semana, a este grupo se le hizo un seguimiento de 2 a 6 semanas ⁵⁶. Los tres grupos que inducidos restantes se les administró por vía oral tres dosis previamente establecidas, al primer grupo (T1) se le administró UD 1000 mg/kg, al segundo grupo (T2) UD 500 mg/kg y el tercer grupo (T3) UD 250 mg/kg. Este tratamiento se aplicó con la ayuda de una sonda nasogástrica por un periodo de 20 días. Al sexto grupo control no inducido negativo (-), solo se les administró Carboximetilcelulosa al 5%.

Durante este periodo de tratamiento también se llevó un control de los scores de inflamación con valores a evaluar de 0-4 como se describió anteriormente, acompañado de la medición del grosor de las patas anteriores y posteriores con la ayuda de un vernier. Ver tabla 5

Grupo	Número de animales	Dosis (mg/kg)
Control	7	Carboximetil celulosa 5%
Control (CIA)	7
Control (MTX)	7	0.2
Tratamiento 1 UD	7	1000
Tratamiento 2 UD	7	500
Tratamiento 3 UD	7	250

Tabla 5. Dosis en mg/kg de los tratamientos con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides*, del Metotrexate, Carboximetil celulosa 5% en las de las ratas macho cepa Lewis.

6.7.1. Evaluación histológica de las patas de las ratas macho de la cepa Lewis

Se procedió a sacrificar a los animales anestesiándolos con una concentración asociación de Xiloxina con Ketamina, y luego realizando la eutanasia por el método de dislocación cervical y evitando el sufrimiento de los animales. El proceso fue realizado por personal del Laboratorio de control de calidad con una amplia experiencia en estos procedimientos. Se determinó este método ya que otros métodos podrían alterar los tejidos para su uso posterior⁵⁷. La necropsias se realizó de manera inmediata para evitar el deterioro de los tejidos, este procedimiento se realizó en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia en el área de control de calidad en una zona estéril siguiendo las normas de bioseguridad, previo a este procedimiento se preparó los materiales necesarios como tijeras de disección, formol al 10%, frascos debidamente codificados, entre otros.

Cortes histológicos de las patas de las ratas Lewis

De cada grupo se extrajo las patas anteriores y posteriores para que se realizaran los respectivos cortes histológicos de las articulaciones anteriores y posteriores de cada animal por grupo, en donde se esperó ver presencia de células inflamatorias en el tejido sinovial, la erosión de hueso y la formación del pannus ⁵⁸. Estas muestras fueron procesadas para el diagnóstico histopatológico.

Descalcificación de la porción de hueso solida (hueso)

Se realizó la fijación de las piezas anatómicas por 24 horas con formol. Posterior a esto se realizó la descalcificación del hueso con 700cc OH absoluto, 200cc H₂O, 100cc de Ácido nítrico concentrado. Luego de esto se realizó la inclusión en la parafina para que se pudiera cortar las láminas de 3 um de espesor en el micrótopo.

Coloración de láminas con Hematoxilina Eosina-Floxina

Después de que la muestra se llevó al micrótopo para cortar las láminas con 3 um de espesor, se debía desparafinar la muestra:

1. Xileno 2 veces x 10 min
2. Etanol 100° 2 veces x 10min
3. Etanol 96° x 5 min
4. Etanol 80° x 5 min
5. Etanol 50° x 5 min
6. Agua destilada x 3min
7. Hematoxilina de Harris x 1-4 min (es una hemateína)
8. Agua x 10 min
9. Agua destilada 2 veces x 1 min
10. Eosina- floxina x 1 min (colorante acido que se une a los elementos citoplasmáticos y matriz extracelular)
11. Etanol 70° x 2 min
12. Etanol 96° x 20 s

13. Etanol 100° 2 veces x 3 min
14. Xileno 2 veces x 10 min
15. Montaje (mercoglass).

Para la determinación de los parámetros del daño articular se tomó como referencia los score de inflamación del tejido sinovial y erosión de hueso utilizado por Georg Schett, Marina Stolina y Brad Bolón en el 2005.

Inflamación en el tejido Sinovial

La Inflamación en el tejido sinovial fue evaluada utilizando valores en la escala del 0 al 4 en las muestras histológicas. Mencionada en la Tabla 6

59

Score de inflamación en el tejido sinovial	Interpretación
0	Normal (no hay presencia de células inflamatorias y osteoclasto)
1	Presencia de algunas Células inflamatorias en el tejido sinovial
2	Inflamación leve(poca presencia de células inflamatorias y osteoclastos en el tejido sinovial)
3	Inflamación moderado (presencia moderada de células inflamatorias y osteoclastos en el tejido sinovial)
4	Inflamación agresiva (alta presencia de células inflamatorias y osteoclastos en el tejido sinovial)

Tabla 6.Score de inflamación en el tejido sinovial de ratas Inducidas por colágeno tipo II.

Erosión del hueso

La erosión del hueso en las muestras histológicas fueron evaluadas utilizando valores en la escala del 0 al 5. Como se menciona en la tabla 7

59

Score de erosión de hueso	Interpretación
0	Normal (no hay presencia de osteoclastos)
1	Mínima erosión (erosión superficial en 1-2 zonas del hueso)
2	Erosión leve(erosión poco profunda en 1-4 zonas del hueso)
3	Erosión moderada(erosión profunda que se extienden en más de 5 zonas del hueso)
4	Erosión marcado (destrucción parcial del hueso)
5	Erosión extensiva (fragmentación de hueso)

Tabla 7. Scores de erosión de hueso de ratas inducida con colágeno tipo II.

6.8. ANALISIS ESTADISTICO

La medición del peso corporal se realizó la medición por cada animal. Para hacer la comparación estadística y ver si hay diferencias entre los grupos se empleó la prueba de Kruskal- wallis utilizando el software GraphPad Prism versión 4 (GraphPad Software, San Diego, CA) un ANOVA para datos no paramétricos, Todos los resultados se expresan como la media \pm SEM, posteriormente se realizó la prueba de test Dunn una prueba post hoc para saber que grupos tenían las diferencias, considerando las diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$ en caso la Prueba de Comparación de Kruskal – Wallis y el test post hoc Dunn.

7. RESULTADOS

7.1. Prueba de toxicidad aguda oral del pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides* (DL50)

Se determinó la toxicidad Aguda por vía oral del pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* mediante el protocolo de la OECD test 423 anexo 2d en el laboratorio de control de calidad del LID- UPCH

Se registró el peso de los animales al inicio del ensayo, a los siete días y a los catorce días del ensayo tabla 10 (ver anexo 2), los animales no presentaron disminución de su peso corporal durante y hasta el final de la prueba. (Ver gráfico 1)

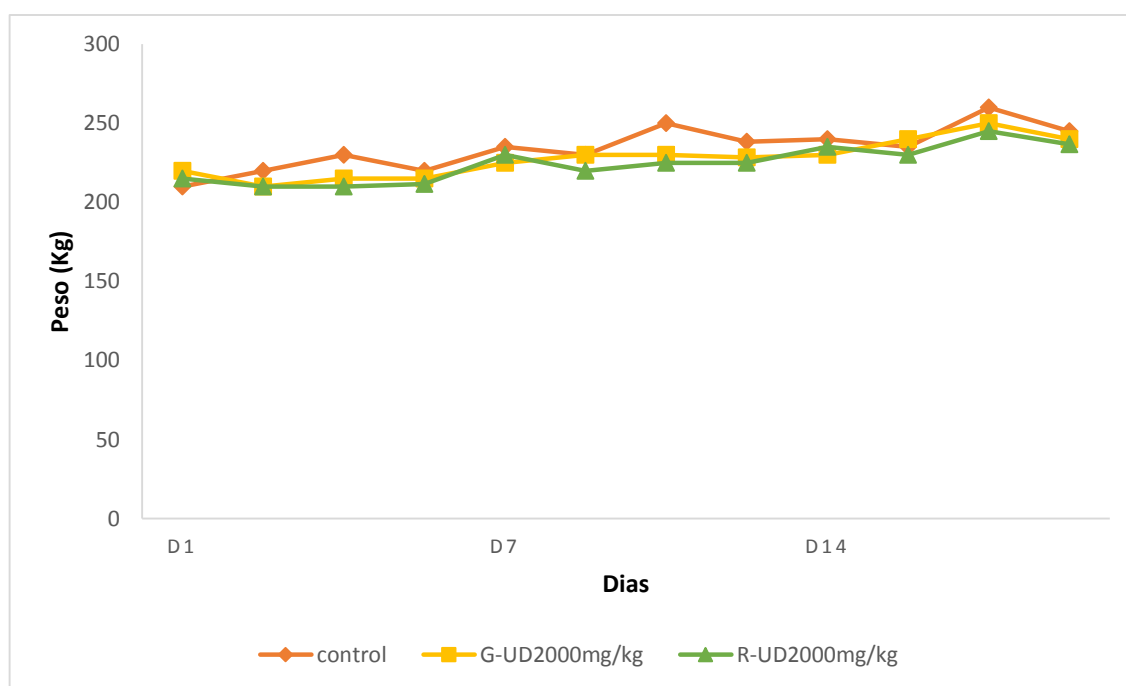


Gráfico 1. Peso corporal de Ratas Macho de la cepa Lewis durante la prueba de toxicidad aguda DL50.

En cuanto los parámetros abióticos, los animales no presentaron un comportamiento anormal como la alteración en la actividad motriz, irritabilidad, confusión, jadeo; ni presentaron signos de intoxicación como salivación, vómitos, diarrea, dificultad para respirar, convulsiones, durante los catorce días que duró la prueba.

El pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* no produjo mortalidad en la dosis administrada con la respectiva repetición, incluyendo el control. Se hizo una primera evaluación durante las primeras 72 horas hasta los 14 días de observación, para determinar posibles efectos adversos o signos de toxicidad. Al término del ensayo se concluyó que a DL50 por vía oral de la pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* es mayor a 5000 mg de pulverizado por kilogramo de pesos de ratas (> 5 g/kg de rata).

(Según Anexo 2d de la guía), Ver tabla 8

Dosis (mg/kg ratas)	Mortalidad Machos Muertos/Totales
2000	0/3
2000 (repetición)	0/3
Control	0/3

Tabla 8. Mortalidad de Ratas Macho cepa Lewis -Toxicidad Aguda Oral DL50.

7.2. Efecto del pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* en ratas inducidas con Artritis reumatoide

Modelo ratas Lewis sometidas al tratamiento con el pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides*

A las ratas cepa Lewis (n=7/ grupo) se les indujo la AR con colágeno tipo II y se hizo un control por tres semanas donde todos los grupos, con la excepción del grupo control negativo mostraron una severa inflamación en las articulaciones de las patas posteriores, seguida de las patas anteriores. Después de que se observó el compromiso de las articulaciones en todos los grupos, el tratamiento comenzó administrándoles un fármaco conocido grupo MTX (Metotrexato) y las tres dosis del pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* (UD 1000mg/kg, UD500mg/kg y UD250mg/kg). Por último, un grupo control negativo cuyas patas tenían un espesor promedio de 4.5 mm.

Se inició el tratamiento con el pulverizado de coleóptero, y el Metotrexato por vía oral con la ayuda de una sonda nasogástrica. La semana 1, el espesor de las pata, con excepción de grupo control negativo se encontraba entre 8.5 a 9.5 mm (ver gráfico 2). Las diferencias significativas ($p < 0.01$) se empezaron a ver en la semana 2 entre los grupos MTX con un $p = 0.0097$ y UD1000mg/kg con un $p = 0.0037$ contra el grupo CIA. Las dosis UD 500 mg/kg y UD250mg/kg tuvieron una disminución del espesor de las patas pero no fueron significativas. De la semana 2 a la semana 3 se presentó una disminución en todos los grupos, fue significativa ($p < 0.05$). La dosis UD1000mg/kg con un $p = 0.0230$, entre la semana 3 a la semana 4 se presentó una disminución significativa ($p < 0.01$) en el espesor de las patas de en los grupos =, UD1000mg/kg con un $p = 0.0037$ UD250mg/kg con un $p = 0.0078$ y también presento una disminución en el espesor de las patas ($p < 0.05$) en el grupo UD 500mg/kg con un $p = 0.0479$. Desde las semanas 5 y 6, todos los grupos mostraron una disminución significativa ($p < 0.01$) contra el grupo CIA que con el paso de las semana fue aumentado la hinchazón y el edema por ende el espesor de las patas (ver gráfico 2)

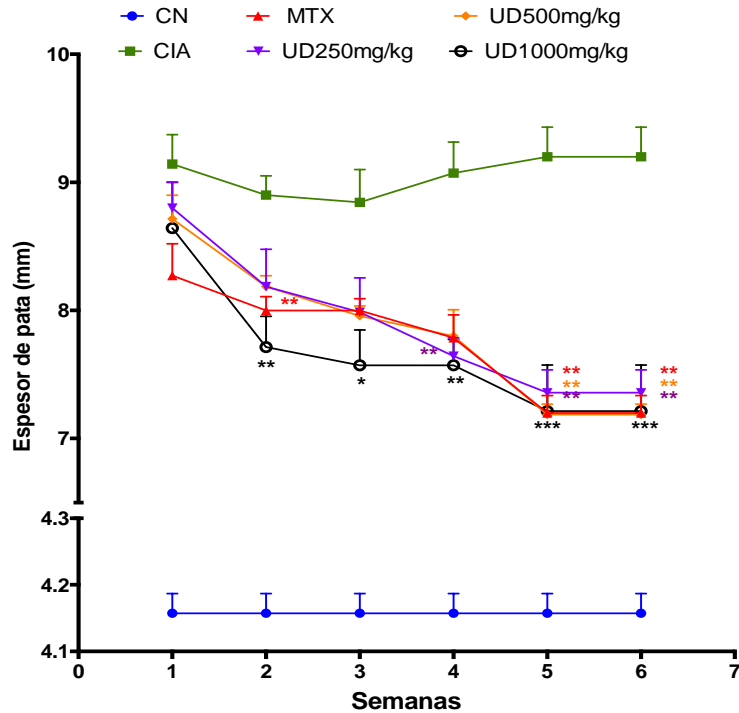


Gráfico 2. Espesor de patas (mm) durante las semanas de tratamiento con el pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides* en las ratas inducidas con artritis reumatoide (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

Los resultados fueron normalizados colocando como el valor máximo de hinchazón el 100%, donde se puede observar también la disminución de la hinchazón de las patas en comparación con el grupo CIA, el grupo MTX mostró una disminución desde la semana 2, pero su mayor disminución se observó desde la semana 4 hasta la semana 6 donde finalizó el tratamiento que fue por debajo de un 80%. El grupo UD1000 en la semana 2 se ve que el porcentaje de hinchazón fue por debajo de 80%, y se mantuvo constante hasta la semana 4 donde se vio una ligera disminución. En el caso del grupo UD500 se observó una disminución de la hinchazón durante las 6 semanas pero se vio una disminución mayor desde la semana 5 donde también tuvo un porcentaje menor al 80% manteniéndose hasta la semana 6, el grupo UD250 mostró una disminución de la hinchazón desde la semana 4 donde bajó por debajo del 80% hasta la semana 6, en conclusión se ve que todos los tratamientos mostraron un efecto antiinflamatorio a partir de la semana 5 hasta la semana 6 sin mostrar un efecto dosis dependiente (ver gráfico 3)

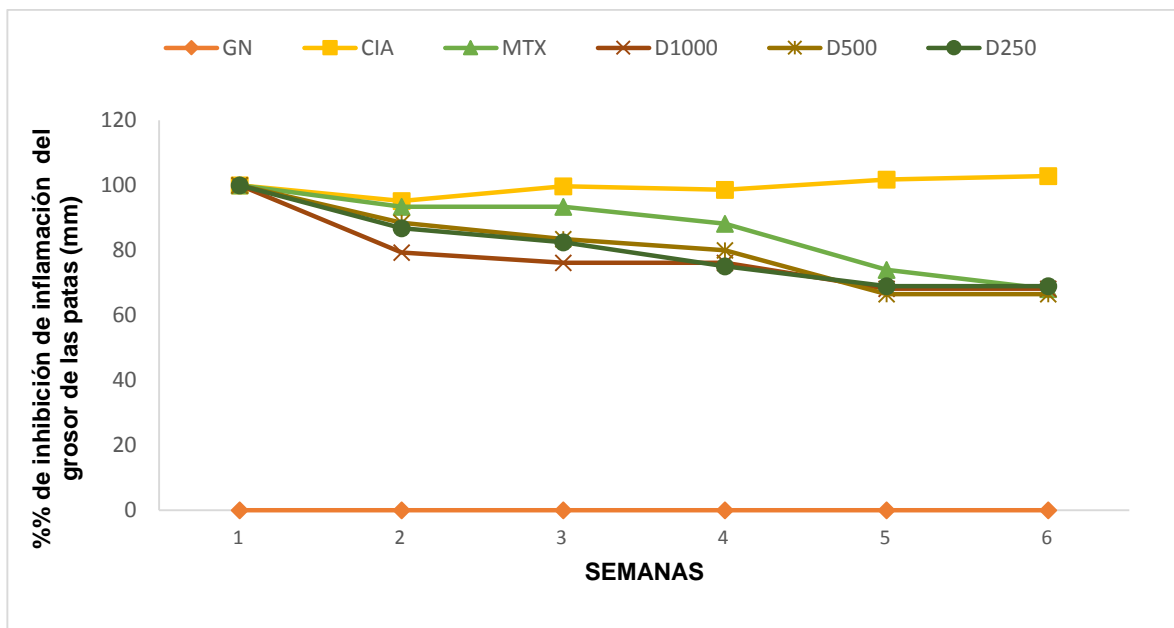


Gráfico 3. Porcentaje de disminución de la hinchazón de las patas (mm) del modelo de artritis animal ratas cepa Lewis.

Por otro lado tenemos también los scores de inflamación donde el grupo control negativo se encuentra con un score de 0, son los animales sanos. Los grupos con artritis tuvieron un scores de inflamación entre 4 y 3 donde 4 representaba artritis severa en toda la pata y el 3 hinchazón de más de dos articulaciones en la semana 1. Se les administro los tratamientos con el pulverizado de coleóptero y el Metotrexato, el primer grupo presento una disminución del edema de inflamación fue el grupo UD1000 con un $p < 0.01$ donde se observó que el score disminuye de 3 a 2 esto nos indicó que había presencia de inflamación de dos articulaciones en un dedo en la semana 2, los demás grupos también presentaron una disminución pero esta no fue significativa, la semana 3 también muestra un reducción de la inflamación siendo el grupo UD1000 el significativo con un $p < 0.01$, a la semana 4 los grupos UD1000 y UD250 mostraron un disminución significativa contra el grupo CIA con un $p < 0.001$, las semanas 5 y 6 mostraron una disminución significativa de todos los grupos tratados contra el grupo CIA con un $p < 0.01$, mostrando un efecto antiinflamatorio en los grupos del ensayo (ver gráfico 4).

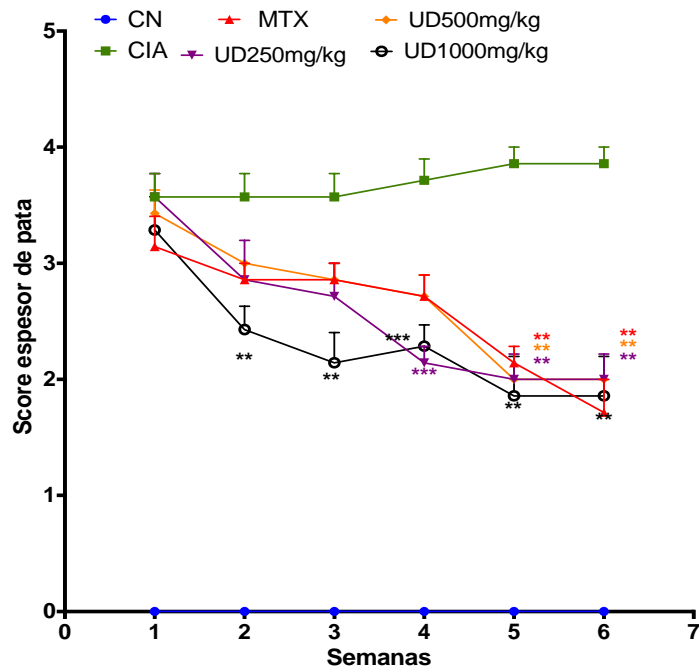


Gráfico 4. Scores de inflamación de las patas durante las semanas de tratamiento con el pulverizado del coleóptero *Ulomoides dermestoides* en las ratas inducidas con artritis reumatoide (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

A estos resultados también se les realizó una normalización colocando al 100% como el valor máximo del score de inflamación donde se observó que el grupo UD1000 tuvo una reducción debajo del 80% en la semana 2, todos los demás grupos presentaron una disminución pero no menor de 80%, la semana 3 nos mostró que los grupos UD1000 y UD250 evidenciaron una mayor disminución de la inflamación donde el enrojecimiento de las patas fue menor, la semana 4 se vio una reducción de la inflamación, pero la semana donde se vio una diferencia mayor entre los grupos tratados contra el grupo CIA fue en la semana 5 y 6 donde todos los grupos mostraron una reducción de más del 60% donde se puede evidenciar un efecto antiinflamatorio en las ratas tratadas. (Ver gráfico 5)

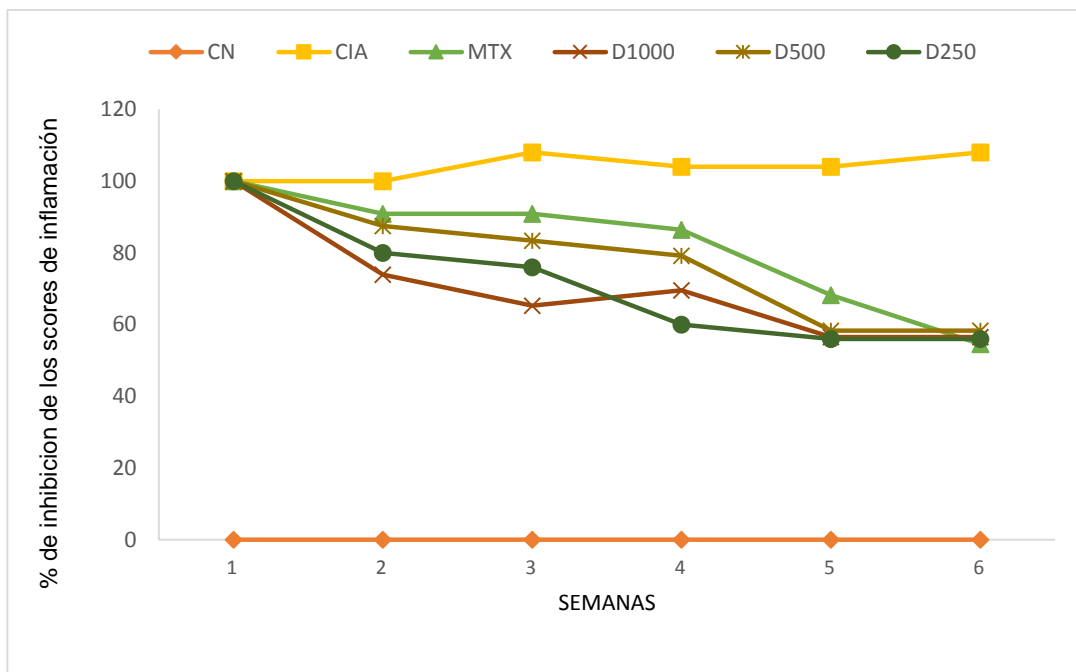


Gráfico 5. Porcentaje de disminución de la hinchazón del scores de inflamación de las patas del modelo de artritis animal ratas cepa Lewis.

7.3. Análisis histológicos del tejido sinovial y la erosión del hueso del modelo animal rata cepa Lewis sometidas a un tratamiento con el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides*.

Después de las seis semanas de tratamiento con el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* se sacrificaron a las ratas Lewis, para realizar los cortes histológicos de las patas y así ver la dimensión de las lesiones, se utilizaron los scores de inflamación en el tejido sinovial (membrana sinovial) de 0 a 4 donde 0 significa tejido sinovial limpio (ver figura 9 a), sin engrosamiento y sin presencia de células inflamatorias, 1 significa presencia de lagunas células inflamatorias, 2 significa inflamación leve poca presencia de células inflamatorias en la membrana sinovial, 3 significa inflamación moderada donde hay presencia de células inflamatorias en la membrana sinovial y presencia de osteoclastos, por ultimo 4 significa inflamación generalizada del tejido sinovial donde hay gran cantidad de células inflamatorias y osteoclastos.

Los resultados arrojaron un diferencia significativa ($p < 0.01$) entre el grupo CIA y los demás grupos, este tuvo un score 4 que nos indica inflamación agresiva del

tejido sinovial, esto también se puede observar en el corte histológico, donde el infiltrado celular (células inflamatorias como linfocitos) es sumamente agresiva, también se observó presencia de osteoclastos que son los que se encargan de degradar el hueso. Por otro lado la membrana sinovial se ve engrosada y formando vellosidades que forman el pannus que ocasiona la rigidez en las articulaciones ver (figura 10 b) , el grupo MTX tuvo un comportamiento diferente ya que tuvo un score de 2 que nos indica una inflamación leve con presencia de células inflamatorias y algunos osteoclastos, se ve engrosamiento de la membrana sinovial con formación de vellosidades y pannus pero es significativamente menor ($p < 0.001$) ver (figura 11 c). Los grupos tratados con el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* tuvieron resultados similares, en comparación con el grupo CIA. Los grupos UD tuvieron una disminución significativa ($p < 0.05$). Los tres grupos tuvieron un score aproximado de 3 que nos indica una inflamación moderada, el Grupo UD1000 mg/kg engrosamiento de la membrana sinovial, donde se observaron células inflamatorias además de formación del pannus ver (figura 12 d), el grupo UD 500 mg/kg presentó una membrana sinovial engrosada y células inflamatoria con formación de vellosidades y la presencia de pannus ver (figura 13 e), el grupo UD 250 mg/kg también presentó un cuadro similar al grupo UD 500 mg/kg ver (figura 14 f). Ver (grafico 6)

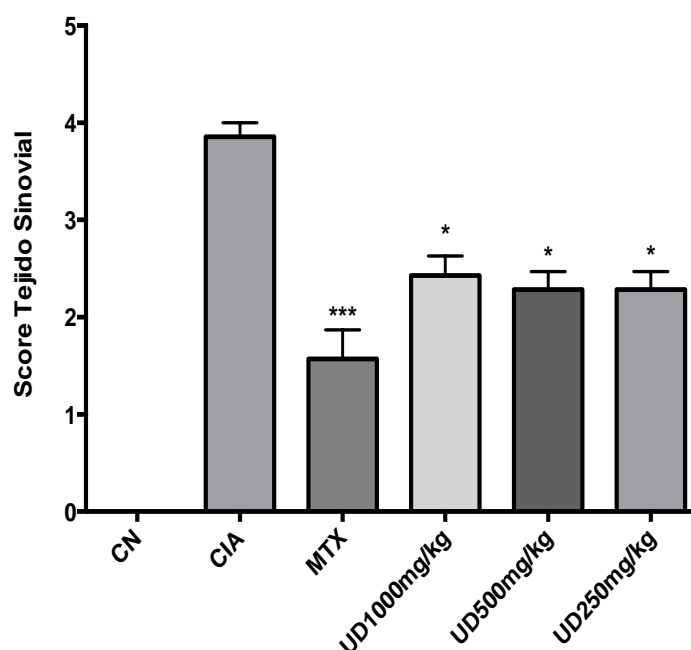


Gráfico 6. Score del tejido sinovial de las ratas tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$).**

También se utilizaron scores de erosión de hueso de 0 a 5 donde 0 significaba hueso conservado y sano (ver figura 9 a), el score 1 significa mínima erosión del hueso con poca presencia de osteoclastos, 2 significa erosión de hueso leve esto quiere decir que la erosión no es tan profunda con presencia de algunos osteoclastos, 3 significa erosión moderada donde la erosión es más profunda y está más extendida, 4 significa erosión marcada ósea destrucción parcial del hueso, 5 significa destrucción total del hueso.

Los resultados mostraron una diferencia significativa ($p < 0.01$) entre el grupo CIA y los otros grupos tratados, el grupo CIA tuvo un score entre 5 y 4, en este grupo el hueso se observa altamente fragmentado, el grupo que mostro una menor erosión del hueso con un score entre 1 a 2 que significa erosión mínima del hueso con una diferencia significativa de ($p < 0.001$) (ver figura 10 b), el grupo MTX tuvo un score de 2 que nos indica que la presencia de erosión del hueso fue mínima, algunos osteoclastos, con una mejor conservación del hueso, significativamente menor ($p < 0.001$) ver (figura 11 c), los tres tratamientos con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* mostraron comportamientos parecidos, el grupo UD 1000 mg/kg contra el grupo CIA tuvo una diferencia significativa ($p < 0.05$) donde

su score fue entre 3 a 2 en este corte histológico se observa el hueso erosionado y presencia de osteoclastos ver (figura 12 d), el grupo UD 500 mg/kg tiene una diferencia significativa ($p<0.01$) con el grupo CIA, donde tiene un score de 2 esto debido a que el hueso si bien se encontró erosionado se veía mejor conservado a diferencia del hueso fragmentado en el grupo CIA ver (figura 13 e), el grupo UD 250 mg/kg tienen una diferencia significativa ($p<0.01$) contra el grupo CIA, presento un score entre 3 a 2 que nos muestra un hueso erosionado pero conservado ver (figura 14 f).

Esto nos hace concluir que los tres tratamientos a pesar de no funcionar como el fármaco Metotrexato puede permitir que el hueso no se deteriore rápidamente y que la inflamación en la membrana sinovial con formación de pannus sea más lenta. (Ver gráfico 7)

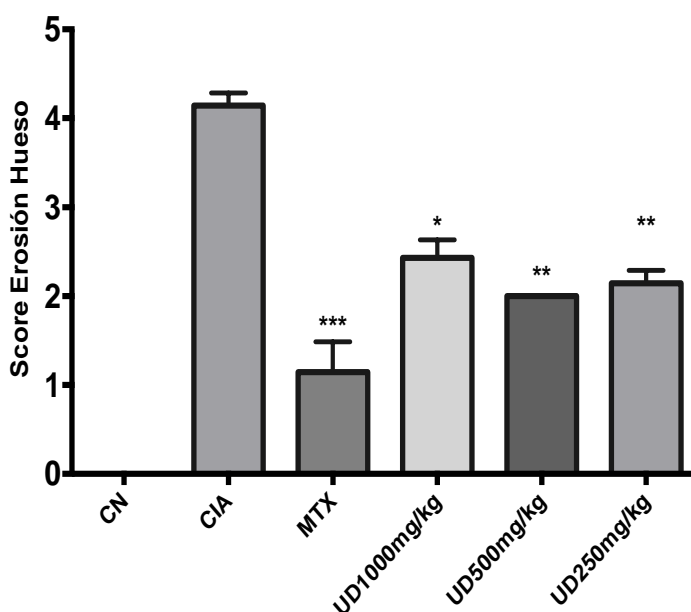


Gráfico 7. Score de la erosión del hueso de las ratas tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, * $p<0.001$)**

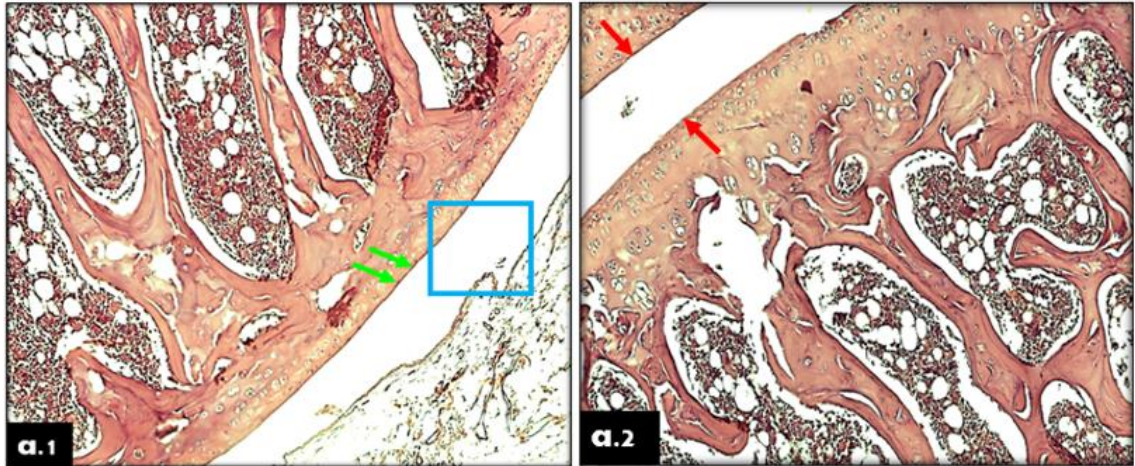


FIGURA 10. Histología de la pata trasera a.1) control negativo rata sanas las flechas verde muestra un cartílago normal, cuadrado azul muestra la cavidad articular limpia, muestra un hueso conservado, a.2) las flechas rojas muestran una articulación normal, cuadrado azul muestra la cavidad articular limpia, muestra un hueso conservado.

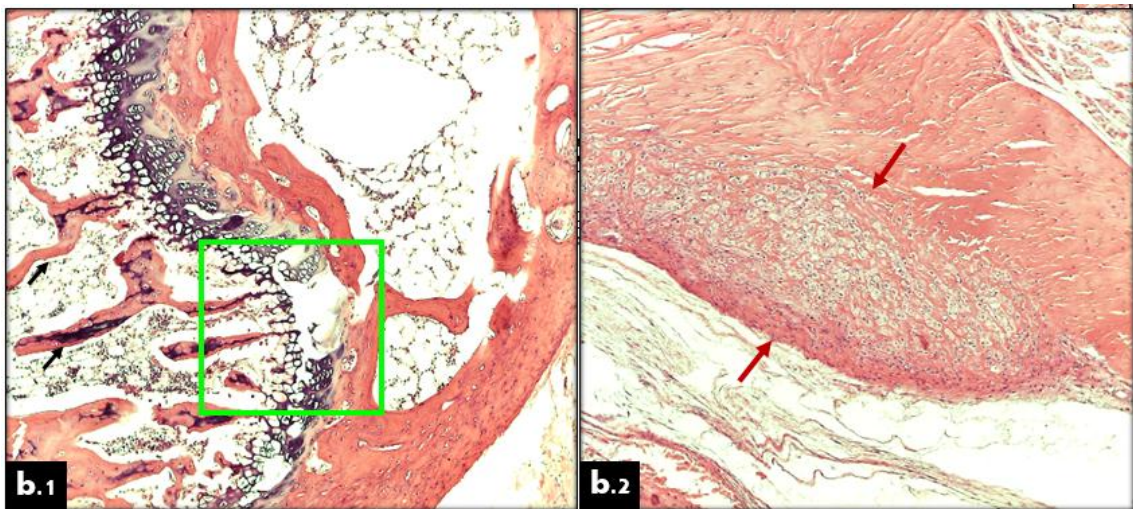


FIGURA 9.b.1) Grupo CIA ratas enfermas, las flechas negras erosión total del hueso, cuadrado verde punteado, pérdida total del cartílago, sin revestimiento de la articulación b.2) las flechas rojas presencia de fibrosis, engrosamiento de la membrana sinovial y formación de vellosidades, presencia de pannus donde se muestra infiltrado celular de células inflamatorias como linfocitos, etc. presencia de y osteoclastos en el tejido sinovial.

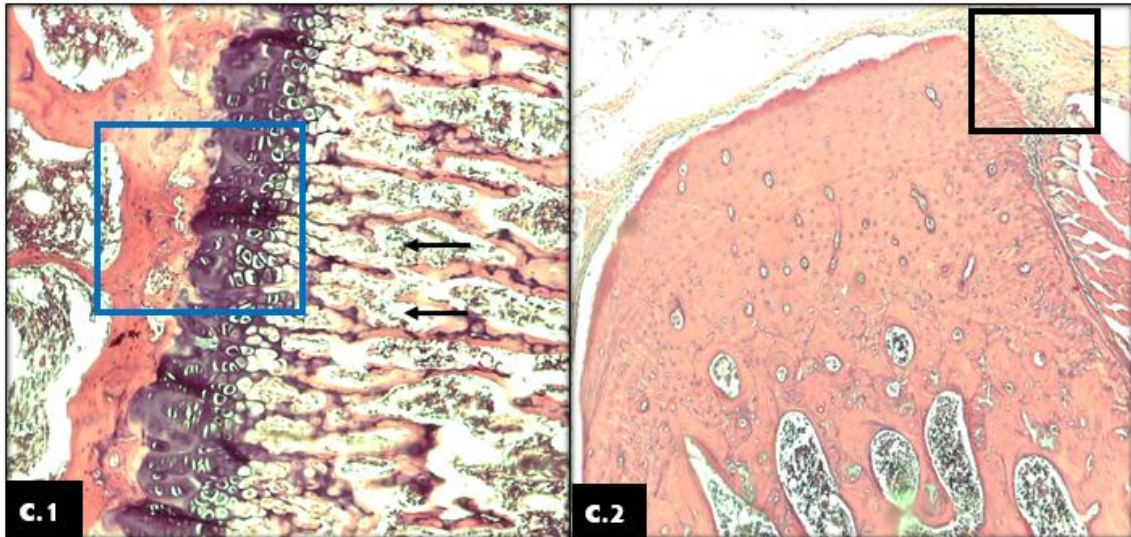


FIGURA 11.c.1) Grupo Metotrexato ratas tratadas con un fármaco conocido, cuadrado azul muestra mejor conservación del hueso y el cartílago, presenta una erosión menor del hueso, flechas negras muestran conservación del hueso, c.2) el cuadrado negro indica presencia de algunas células inflamatorias en el tejido sinovial, también hay engrosamiento leve de la membrana sinovial y

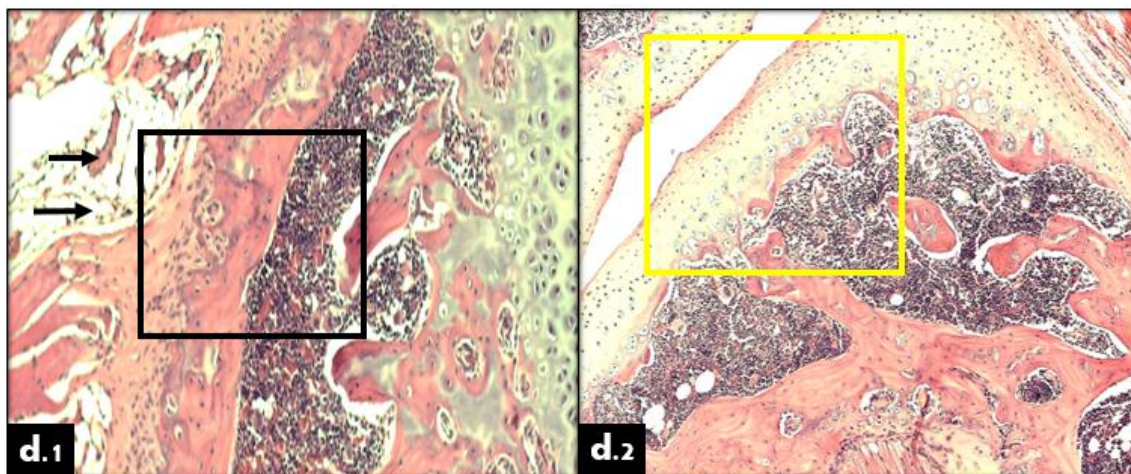


FIGURA 12. d.1) Grupo UD1000mg/kg, las flechas negras muestran hueso erosionado, cuadrado negro muestra mejor conservación del hueso y del cartílago presencia de osteoclastos, mayor espacio articular, d.2) en el cuadrado amarillo se observa engrosamiento de la membrana sinovial donde hay formación de vellosidades y formación de pannus, hay presencia de células inflamatorias.

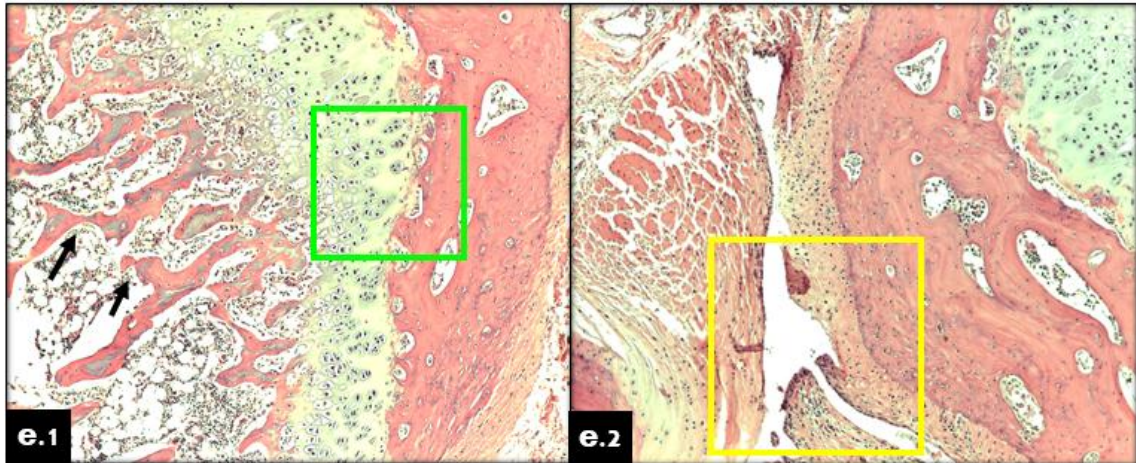


FIGURA 13.e.1) Grupo UD500 mg/kg, las flechas negras muestran hueso erosionado pero mejor conservado, cuadro verde muestra cartilago conservado presencia de osteoclastos, mayor conservación hueso, e.2) en el cuadro amarillo muestra engrosamiento de la membrana sinovial y formación de vellosidades, presencia de pannus, infiltrado de células inflamatorias en el tejido sinovial.

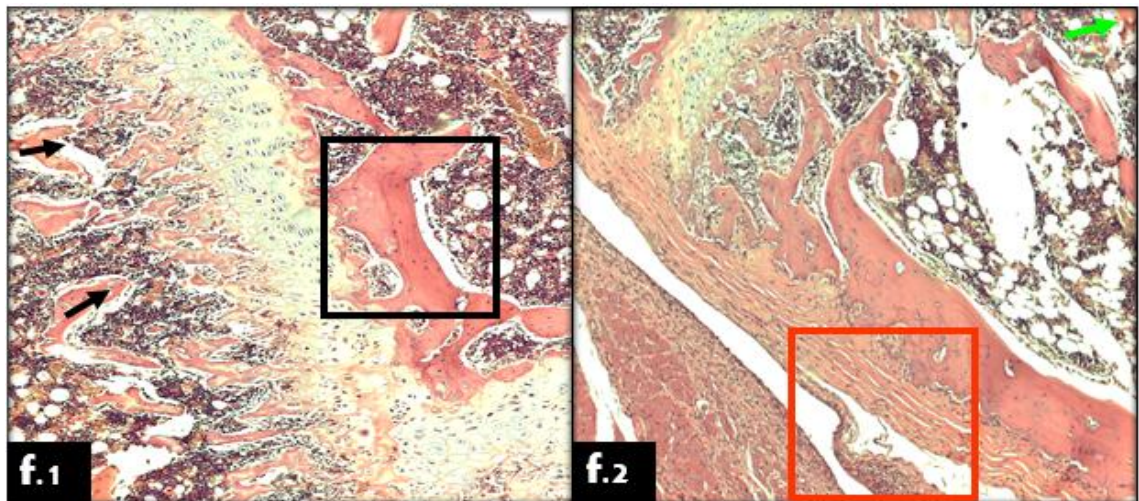


FIGURA 14.f.1) Grupo UD 250 mg/kg, las flechas negras muestran partes de hueso erosionado, cuadro negro muestra conservación del hueso, f.2) en el cuadro naranja muestra engrosamiento de la membrana sinovial, formación de vellosidades, presencia de células inflamatorias en el tejido sinovial.

8. DISCUSIÓN

Como se sabe la Artritis reumatoide es una enfermedad degenerativa que sufren en su mayoría personas a partir de los 40 años, en el Perú alrededor del 1% padecen de esta enfermedad ⁴, es por ello que se han realizado diversas investigaciones en la búsqueda de tratamientos alternativos, ^{1, 2, 4, 5, 6} dado que en algunos países los pacientes gastan alrededor de 12 mil dólares anuales en terapias biológicas y alrededor de 100 dólares mensuales con fármacos reconocidos como es el caso del Metotrexate, Leflunomida, etc. ³⁴

Para el tratamiento de una enfermedad se debe garantizar la seguridad e inocuidad del compuesto, es decir no debe ser tóxico, la determinación de la toxicidad aguda (DL_{50}) como primer parámetro de evolución es indispensable, por lo que este parámetro fue uno de los objetivos principales en este trabajo, la prueba de toxicidad aguda DL_{50} por vía oral de la pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* fue mayor a 5000 mg de pulverizado por kilogramo de pesos de ratas (> 5.0 g/kg de rata), durante los 14 días del ensayo, la tasa de mortalidad fue nula (según la Guía de la OECD que en su número 423 anexo 2d plantea la evolución toxicológica aguda). Lo cual nos permite hacer una comparación entre los productos alternativos y de los fármacos convencionales usados en el tratamiento de AR, como es el caso de Metotrexate que en estudios anteriores se realizaron pruebas en ratas donde se observó que la DL_{50} por vía oral era de 180mg/kg ⁶⁰, si hacemos una comparación de cuál podría ser más nociva al ser usada con más frecuencia, la toxicidad aguda DL_{50} del Metotrexate es 10 veces más tóxica que el pulverizado de *Ulomoides dermestoides*, esto es avalado por diversos estudios donde se muestra que el Metotrexate tienen una serie de efectos adversos como gastrointestinales, erupción cutánea, hepatotoxicidad, toxicidad pulmonar, hematológica y pérdida de cabello. El Metotrexate es un análogo del ácido fólico que se usa en el tratamiento de neoplasias, como inmunomodulador y antiinflamatorio, pero el Metotrexate y sus metabolitos inhiben enzimas como dihidrofolato reductasa, una enzima que se encuentra presente en la síntesis de purinas y pirimidinas, que son indispensables para la formación de ARN y ADN, al provocar estrés oxidativo en el retículo endoplásmico, acumulando proteínas mal almacenadas por la disrupción del anillo de disulfuro implicado en procesos

de transcripción como las proteínas que regulan los esteroides que son importantes para la síntesis de lípidos en la membrana del retículo endoplásmico, generando esteatosis hepática, además podría producir apoptosis. De la misma forma, pueden generar la inhibición de la hematopoyesis causando anemia, leucopenia, trombocitopenia, por otro lado los efectos tóxicos pulmonares se pueden presentar después de semanas de consumir el Metotrexate, presentándose en el 0.3% - 7.5% de los pacientes con artritis reumatoide^{35,80}. Por otro lado se han realizado evaluaciones en plantas medicinales, un ejemplo de ello fue la *U. tomentosa* conocido empíricamente como “Uña de gato” donde se encontró que su D_{L50} fue de 16g/kg, esto nos sugiere que tanto la *U. tomentosa* y el pulverizado *Ulomoides dermestoides* con un D_{L50} de 5g/kg son mucho más bajas en comparación a los fármacos convencionales⁴⁹, en un ensayo previo se realizó análisis químico proximal del pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides*, donde los carbohidratos con un 67,85% fueron el componente mayor encontrado en este coleóptero utilizando el método antrona método rápido y sensible a bajos niveles de concentración de carbohidratos.⁶³ El siguiente compuesto encontrado fueron las proteínas totales con un 20,124% usando el método de kjeldahl, otro componente encontrado fue ácidos grasos con el método Soxhlet con un 20,124% , esto nos indica que este coleóptero puede ser usado como un suplemento dietético, en estudios previos se ha demostrado que el orden coleóptera posee un alto valor nutricional como es el caso del coleóptero *Rhynchophorus palmarum* L , en donde se encontraron aminoácidos esenciales para el ser humano.⁶⁴ (ver anexo 5)

Otro objetivo principal del estudio fue ver si estos coleópteros tenían capacidades antiinflamatorias , se realizó un ensayo con ratas Lewis inducidas con artritis CIA a las cuales se les trató con el pulverizado por un periodo de 42 días posterior a este ensayo se realizaron cortes histológicos donde se observó que las tres dosis de pulverizado (UD 1000mg,500mg y 250mg) de *Ulomoides dermestoides* presentaron un efecto antiinflamatorio, como se sabe la artritis provoca una inflamatoria crónica donde se puede ver inflamación, hiperplasia, el infiltrado de células inmunológicas (citoquinas, TNF- α , interleuquinas) en el tejido sinovial, y erosión del hueso⁶⁵ , durante este ensayo los cortes histológicos de las patas de las ratas inducidas con artritis con colágeno tipo II tratadas con las tres dosis de *Ulomoides dermestoides* fueron comparadas observando los Cortes histológicos

del tejido sinovial y el hueso con el grupo CIA (sin tratamiento) (ver figura 9) también observó las vellosidades que forman el pannus en la sinovia esta no fue crónica, como el del grupo CIA sin tratamiento donde la formación del pannus fue grosera, además durante el ensayo estos tres grupos de animales si podían moverse, lo que no sucedió con el grupo CIA donde al finalizar el ensayo las patas posteriores ya no las podían mover corroborando a lo visualizado en los cortes. La presencia de osteoclastos conocido por su función remodeladora del hueso, pero también se han encontrado indicios donde los osteoclastos comparten un origen común con las células del sistema inmune, por lo que su papel en las enfermedades inmunológicas que afectan las articulaciones gana una mayor relevancia donde se les atribuyen funciones como la secreción de citoquinas y células presentadoras de antígeno.⁶⁶ Estudios previos también evaluaron los efecto antiinflamatorio del *Ulomoides dermestoides* en ratas con pleuritis inducidas con una inyección intrapleural de carragenina produciendo la migración de leucocito (PMNs), por otro lado se realizó el tratamiento con el extracto acuoso de U. dermestoides (8 mg / kg y 16 mg / kg), donde se vio un disminución significativa del infiltrado celular y la disminución de leucocitos totales (PMNs) en la cavidad pleural y la reducción del edema.⁸

Este coleóptero es ampliamente usado en la medicina tradicional de países como China y Japón para tratar problemas en las articulaciones, problemas respiratorios como asma, por otro lado este coleóptero es usado en Brasil para el tratamiento de asma de manera empírica, en América Central y Sudamérica se tiene otro coleóptero llamado “*Palembus ocularis*”, que es usado para tratar asma por lo cual se le realizaron estudios que buscaban encontrar una explicación lógica para su uso, se encontraron sustancias químicas en las glándulas piggiales que este coleóptero las usa como secreciones de defensa, las quinonas como hidroquinona, 2-etilhidroquinona y 2-metilhidroquinona, terpenos, ácidos grasos, colesterol, lactonas y 1- pentadecenos fueron las sustancias encontradas ,se realizaron ensayos con el extracto acuoso e hidroquinonas usando la 5-lipoxigenasa enzima que forma parte de la patología sintomatología del asma, además de eso esta enzima está presente en las células inflamatorias como PMNs, mastocitos, eosinófilos y basófilos, también está implicada en el shock anafiláctico, encontrándose que esta enzima era inhibida por estas sustancias químicas, llegando a tener evidencia de que el *Palembus ocularis* tiene

propiedades antiinflamatorias ^{61,67,68}, estos estudios también fueron realizados en el *Ulomoides dermestoides* encontrando que tenían gran cantidad de quinonas que son secreciones de defensa contra sus depredadores para repelerlos, como el metil-1,4-benzoquinonas y etil-1,4-benzoquinonas, alquenos y terpenos ^{8,67}. Por otro lado también se ha demostrado que la capacidad antioxidante del *Ulomoides dermestoides* por la presencia de otros metabolitos presentes en el cuerpo de este coleóptero como compuestos hidrofóbicos en posición C4 del renorcitol antioxidante que puede inhibir la actividad tirosinasa, que es una enzima catalizadora de la oxidación de fenoles, también se encontró la presencia de ácido oleico un compuesto que tiene propiedades antioxidantes, se ha reportado beneficios para el tratamiento de enfermedades inflamatorias ⁶⁹, además el ácido oleico podría influenciar en el metabolismo del ácido araquidónico, disminuyendo la producción de eicosanoides proinflamatorios ⁷⁰, todos estos hallazgos nos dan una muestra del enorme potencial etnofarmacológico del coleóptero *Ulomoides dermestoides*, pero hay una falta de estudios en modelos animales, ya que todos estos estudios se han realizado en ensayos con enzimas o células epiteliales del carcinoma del pulmón (células A549) para probar la citotoxicidad y genotoxicidad de las secreciones de defensa de este coleóptero donde se pudo ver que la inhibición de la proliferación de estas células y el daño en su ADN cuando se las enfrentó con las 1,4-benzoquinona que fueron extraídos de este coleóptero, dando una punto de partida para poner más énfasis a estudios en compuestos volátiles del coleóptero *Ulomoides dermestoides*⁷¹. En otros estudios con células Hacat que son células de queratinocitos extraídas de la piel humana que tienen como característica su capacidad de diferenciarse y proliferarse a gran velocidad observándose que los extractos fenólicos extraídos de este coleóptero muestran una citotoxicidad y genotoxicidad muy baja por lo que se sugiere que este insecto podría ser sujeto de mayor investigación de interés biomédico.⁷²

Con este trabajo podemos observar los efectos del coleóptero *U. dermestoides* en un modelo animal de artritis inducido con colágeno tipo II de la cepa Lewis (MHC haplotipo RT¹) donde al tener un ciclo de vida más rápido se puede observar como esta afección evoluciona de manera similar a la producida en las afecciones en humanos si bien no se puede hacer una comparación exacta si se puede hacer una extrapolación y así tener más puntos de referencia para poder hacer más estudios, este modelo de artritis nos permitió ver como el pulverizado de coleóptero

Ulomoides dermestoides si bien no curó de la artritis inducida a las ratas macho de la cepa Lewis, si se observó que el deterioro de las articulaciones fue menos que el grupo donde no se les realizó el tratamiento con las dosis del pulverizado observándose que el hueso estaba muy comprometido y que el infiltrado celular en el tejido sinovial era bastante alto de forma macroscópica ese grupo ya no podía caminar al término de la prueba, a diferencia de los otros grupos que si bien tenían dificultades para moverse esta no fue una limitante.

9. CONCLUSIONES

- La prueba de toxicidad aguda D_{L50} por vía oral de la pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* es mayor a 5000 mg de pulverizado por kilogramo de pesos de ratas (> 5.0 g/kg de rata).
- Se ha determinado el efecto antiinflamatorio en la ratas macho cepa Lewis tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* a tres dosis de UD1000 mg/kg, UD500mg/kg, UD250mg/kg, donde se observó la disminución de la hinchazón de las patas anteriores y posteriores.
- Se determinó que el grado de infiltración celular fue significativamente menor en los tres tratamientos con el pulverizado *Ulomoides dermestoides*, UD1000 mg/kg, UD500mg/kg, UD250mg/kg a diferencia del grupo CIA (ratas inducidas con artritis reumatoide sin tratar) donde se observó la presencia de osteoclastos, células inflamatorias como leucocitos en el tejido sinovial, donde también se vio la formación del pannus que es uno de los principales problemas en la artritis reumatoide, que es la rigidez en las articulaciones causando discapacidades.
- Se determinó que la erosión del hueso tuvo un rango significativo menor en las tres dosis de 3 con el pulverizado *Ulomoides dermestoides*, UD1000 mg/kg, UD500mg/kg, UD250mg/kg, ya que la conservación del hueso significativamente mejor ($p < 0.05$) a diferencia del grupo CIA (ratas inducidas con artritis reumatoide sin tratar) donde de observo que la destrucción del hueso.

10. RECOMENDACIONES

- Este trabajo es una ventana para posteriores estudios donde se podría indagar con mayor cuidado los efectos del coleóptero *Ulomoides dermestoides* no solo en la AR sino en otros procesos inflamatorios como el asma una afección muy común en estos días.
- Se sugiere que los compuestos ácido oleico y 4-etil-resorcinol pueden ser los responsables de la actividad antioxidante del extracto metabólico de *Ulomoides dermestoides*; sin embargo, es necesario investigar otros compuestos que todavía no se han estudiado.
- Al utilizar este modelo animal de artritis se pudo observar cómo se dan los efectos de la Artritis y como el tratamiento puede tener un efecto de reducir el daño que produce esta condición, por lo que nos sugiere mayores estudios a nivel de marcadores tumorales para citoquinas como, (TNF- α), IL1,2,6 y así mismo como es que las células de sistema inmune actúan a un nivel más específico.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Ortiz- Ortiz, Artritis Reumatoide: Algunos aspectos inmunológicos. Instituto de investigaciones biomédicas de la UNAM, nov 2010
2. Lipsky P. Rheumatoid Arthritis. HARRISON'S PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE. Mc Graw Hill, 2001; 15:1929-1937.
3. Delgado A, Martín J, Granados J, Anaya J. Epidemiología genética de la artritis reumatoide: ¿qué esperar de América Latina? .Rev Biomédica. 2006; 26:562-584.
4. Edward D. Harris, Jr., Ralph C. Budd, Mark C. Genovese. Kelly Tratado de Reumatología. Vol II, III 7ma edición. Génova, España .Elsevier 2006.
5. Acevedo-Vásquez, Eduardo M, Algunos aspectos de la artritis reumatoide en Perú. Rev Sociedad Peruana de Medicina Interna, 2012; 25:31-37.
6. Medlineplus; artritis reumatoide, [Página actualizada 25 junio 2014 Tema revisado 15 enero 2014]. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/rheumatoidarthritis.html>
7. Hernández T. Plantas medicinales para enfermedades reumáticas. 1a Ed. Madrid: UCM Editorial Complutense; 2006.
8. Santos, R. Lunardelli, Adroaldo, Eduardo Bastos, Fernanda Bordignon F, Lozza E, Jarbas Rodrigues. "Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of Ulomoides dermestoides on induced pleurisy in rats and lymphoproliferation in vitro", Inflammation, 2010; 33:173-179.
9. Zhou. Determination of nutritional components of in Palembus dermestoides. Journal Article, 2006; 43.
10. Rodríguez E, Pérez B, García A, Cuate V, Cinco J. Ciclo de Vida de Ulomoides dermestoides (coleoptera: tenebrionidae) en Condiciones Controladas de Temperatura y Humedad. Rev Entomología Mexicana, 2014; 1: 431-435.
11. Olmo L. Artritis: Definición (sitio en internet) .Ommeda.es para tu salud. Disponible en: <https://www.onmeda.es/enfermedades/artritis-definicion-6084-2.html>. Acceso el 27 de junio de 2012.
12. Flores F. Artritis reumatoide .Dr Vidal Neira. Bases y Principios en Reumatología. vol I 1 era edición, 1993; 45-62.

13. Venables P. Epstein-Barr virus infection and autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 1988; 47:265-269.
14. Alvaro JM. Patogenia de la Artritis reumatoide. *Rev Clin Española*. 2000; 1(200):25-31.
15. Harris ED, Reumatoid Arthritis: Pathophysiology and Implications for therapy, *New Engl j Med*. 1990; 18:1277.
16. Jakin HE, Autoantibody specificities of immune complexes sequestered in articular cartilage of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis, *Arthritis Rheum*, 1985;28:241.
17. Caplazi P, Baca M, Barck K, Bolon B. Mouse Models of Rheumatoid Arthritis. *Veterinary Pathology*. 2015;52(5):819-826.
18. Marinova L, Williams R O, Mason L J. Dynamics of proinflammatory cytokine expression in the joints of mice with collagen-induced arthritis (CIA). *Clin Exp Immunol* 1997; 107:507-512.
19. Fleming A, June M. Early rheumatoid disease. The Department of Rheumatology, Middlesex Hospital Medical School, *Annals of the Rheumatic Diseases*. London. 1976; 35:357.
20. Van De Putte LB, Hegt VS, Activations and inhibitors of fibrinolysis in rheumatoid and non rheumatoid synovial membrana: a histochemical study , *Arthritis Rheum*, 1977;20:671
21. Alegre J, Alonso J, Álvarez B. Artritis Reumatoide. Manifestaciones Clínicas Extraarticulares. Complicaciones Infecciosas. Sección de Reumatología. Hospital General Yagüe. Burgos, 2013; 8(27): 1379-1386.
22. Ruiz A, Alperi M, López. Manual SER de enfermedades reumáticas, vol I 6ta edición. Madrid, España, Sociedad Española de Reumatología, 2014.
23. Domingo MA. Evaluación e Impacto de la Intervención Farmacéutica mediante el seguimiento farmacoterapéutico a pacientes Diagnosticados de Artritis Reumatoide en Tratamiento con Terapia Biológica, 2009; 1-286.
24. Amett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fres JF, Cooper NS et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988; 31: 315-324.
25. Combe B, Lukas C, Morel J. Artritis reumatoide del adulto: Epidemiología, clínica y diagnóstico. *EMC - Aparato locomotor* 2015; 48(4):1-17.

26. Citera G, Píndaro. Clasificación y Epidemiología de las Enfermedades Reumáticas. Bases y Principios en Reumatología. Dr Vidal Neira vol. 1, 1 era edición, 1993. p 23-42.
27. Stastny P. Association of the B-Cell Alloantigen DRw4 with Rheumatoid Arthritis. *The New England Journal of Medicine*, 1978; 298:869-871.
28. Ansar S, Dauphinee MJ. Effects of short-term administration of sex hormones on normal and autoimmune mice. *The Journal of Immunology*, 1985; 134:1: 204-210.
29. Mulero J, Contreras MA, Barbadillo C, Andreu JL. Epidemiología. Factores etiológicos Epidemiology. Prognostic factors. *Rev Clin Esp* 2000; 200(1):14-9.
30. Hernandez RM, Gonzalez R. Rheumatoid Arthritis: Prevalence in a Tropical Area. *Arthritis & Rheumatism*, 1964; 7:171-176.
31. Palmer R, Retalliau H, Healey LA .Prevalence of rheumatoid arthritis in Alaskan Eskimos. *Arthritis y Rheumatology*, 1973; 16(6):737-742.
32. Aikman H. The association between arthritis and the weather. *International Journal of Biometeorology*, 1997; 40(4):192-199.
33. Ruiz V, Sanmartí R. Tobacco and Other Environmental Risk Factors in Rheumatoid Arthritis. *Reumatología Clínica*, 2012; 8(6):342-350.
34. Caballero Uribe CV. Artritis reumatoide como enfermedad de alto costo. *Rev Colombiana de Reumatología*. 2004; 11(3):225-231.
35. Wolfe F, Hawley DJ. The long-term outcomes of rheumatoid arthritis: Work disability: a prospective 18 years of 823 patients. *J Rheumatol*, 1998; 25: 2108-2117.
36. Caballero AF, Felgueres MJ, Vela E, Gómez D. Estrategias terapéuticas para la artritis reumatoide: hacia las terapias biotecnológicas. *Rev Meigraphic*. 2017; 6(2):69-87.
37. Jaya K, Doyt L. Terepias alternativas para la Artritis y las enfermedades musculoesqueleticas relacionadas. . Edward D. Harris, Jr., Ralph C. Budd, Mark C. Genovese. Kelly. *Tratado de Reumatología*. Vol II, III 7ma edición. Génova, España. El sevier 2006.p. 477-490.
38. Francisco J Blanco, Javier Ballina, Jordi Carbonell. Descriptive study of the use of DMARD in patients with Rheumatoid arthritis or persistent arthritis who start drug treatment in Spain (FIRST). *Reumatol Clin*. 2011; 7:88-93.

39. Arthur D. Chapman Numbers of Living Species in Australia and the World. Report for the Australian Biological Resources Study. 2ed. Australia, 2009.
40. Zarazaga MA. Orden Coleoptera, Depto. de Biodiversidad y Biología Evolutiva Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), 2015; 5:1-18.
41. Perez D. Diversidad y Endemismo de los Escarabajos (Insecta: Coleoptera) en la Hispaniola, Antillas mayores, Department of Entomology, U.S. National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, P.O. Box 37012, Washington, DC, 20013-7012, USA, 2011; 4:65-79.
42. Tejeda D, Maleny K, Caracterización de los efectos biológicos y terapéuticos del gorgojo del maní (*Ulomoides dermestoides*), 2014; 1-59.
43. Toshiharu Y. Rate of Oviposition and Effect of Crowding on Egg Cannibalism and Pre-adult Mortality *Martianus dermestoides* Chevrolat (Coleoptera, Tenebrionidae). *Sci Fac. Agr.* 1974; 44:9-14.
44. Morillo Y, Olivero J, Caballero K. Life cycle of *Ulomoides dermestoides* (Fairmaire, 1893) (Coleoptera: Tenebrionidae) under laboratory conditions, *Journal of Stored Products Research*, Colombia, 2016; 69:272-275.
45. Garcés AM, Arango GP. “Cría de *ulomoides dermestoides*, coleoptera: tenebrionidae, en tres tipos de sustrato”, *Revista Lasallista de investigación*, 2009; 6: 64-68.
46. Deloya G. Sustancias Producidas Por El Coleóptero *Ulomoides Dermestoides* (Chevrolat, 1878) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae): Efecto Anti-Inflamatorio Y Citotóxico. *Red de revistas científicas de América Latina, el Caribe y Portugal*, 2014; 30:655-661.
47. Fernández P. Unidad de Epidemiología clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. A Coruña, *Cad Aten Primaria* 1996; 3:138-14.
48. Mendoza D, Salgado M, Durant L. Capacidad antioxidante de extractos metálicos de cuerpo entero del escarabajo *Ulomoides dermestoides* (Chevrolat, 1893). 2013; 32:402-410.
49. Griffiths M M, E.J Eichwald, J.H. Martin, C.B. Smith, and C. W. DeWitt: Immunogenetic Control of Experimental Type II Collagen - Induced Arthritis. I. Susceptibility and resistance among inbred strain of rats. *Arthritis Rheum.* 1981; 24:781-789.

50. Joint. Expert Committee on Food Additives. “Normas de identidad y pureza para los aditivos alimentarios y evaluación de toxicidad”, decimo informe del comité mixto FAO/OMS, 1967; 43:373.
51. OECD guide line for testing of chemicals, 17th December 2001.
52. Holmdahl R. Characterization of the Antibody Response Arthritis, Using Monoclonal in Mice With Type II Collagen-Induced Anti-Type II Collagen Antibodies. *Arthritis and Rheumatism*, 1986; 29:400-410.
53. Seferian P, Martinez M. Immune Stimulating Activity of Two New Chitosan Containing Adjuvant Formulations. *Vaccine* 2000; 19: 661–668.
54. Holmdahl R, Carina V. Homologous collagen-induced arthritis in rats are associated with structurally different major histocompatibility complex DQ-like molecules. *Eur. J. Immunol.* 1992; 22:419-424.
55. Vigsbo C, Larsson P, Andersson M, Holmdahl R. Association of Pepsin with Type II Collagen (CII) Breaks Control of CII Autoimmunity and Triggers Development of Arthritis in Rats. *Scand J Immunol*, 1993; 37:337-423.
56. Tornero J, Sala R. Actualización del Documento de Consenso de la Sociedad Española de Reumatología sobre el uso de terapias biológicas en la artritis reumatoide. *Sociedad Española de Reumatología*. 2010; 6-1:23–36.
57. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, uso de los animales de laboratorio.
58. Lorenzo N, Domínguez M, Hernández A, Barberá A, Merino N, Vazquez A, Suárez J, Morera V, Padrón G. Characterization of two experimental rodent models for evaluating novel drugs for Rheumatoid Arthritis. *Biotecnología Aplicada*, 2008; 25:236-24.
59. Schett G, Stolina M, Bolon B. Analysis of the Kinetics of Osteoclastogenesis in Arthritic Rats, *American College Of Rheumatology*, 2005; 10:3192-3201.
60. Wyeth Farma. Ficha técnica: Metotrexate Wyeth (sitio en internet). Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Disponible en:
61. https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/40698/FichaTecnica_40698.html.pdf. Acceso marzo del 2018.
62. Igualada J, Romero G. Metotrexato: toxicidad pulmonar, hepática y hematológica. *Rev clín med fam* 2016; 9(3): 159-166.

63. Akram-Al M. Histological and Histochemical Studies on the Effects of Methotrexate on the Liver of Adult Male Albino Rat. *Int. J. Morphol.*, 2006; 24(3):417-422.
64. Hall MB. Methodological challenges in carbohydrate analysis. *R. Bras Zootec.* Vol. 36, 2007.
65. Vargas G, Espinoza G, Ruiz C. Valor nutricional de la larva de *Rhynchophorus palmarum* L.: comida tradicional en la amazonía peruana. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2013; 79 (1).
66. Xi Chen, DuBois D. Biodistribution of Etanercept to Tissues and Sites of Inflammation in Arthritic Rats. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2015; 43:898-907.
67. Arboleya L. Osteoclasts: much more than bone remodelling cells. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2014 6; 4:109-121.
68. Wahrendorf M, Wink M. Pharmacologically active natural products in the defence secretion of *Palembus ocularis* (Tenebrionidae, Coleoptera). Germany *Journal of Ethnopharmacology*.2016; 106:51-56.
69. Pontificia universidad Javareira: Departamento de ciencias fisiológicas, Bogotá, Pontificia universidad Javareira. (Disponible en internet).25 de mayo de 2018.Disponible en: <http://med.javeriana.edu.co/fisiologia/fw/c37.htm>.
70. Carrillo C, Cavia M del M, Alonso-Torre S. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. *Nutr Hosp.* 2012; 27(4):978-90.
71. Bartoli R, Fernández-Banares F, Navarro E, Castella E, Mane J, Álvarez M, et al. Effect of olive oil on early and late events of colon carcinogenesis in rats: modulation of arachidonic acid metabolism and local prostaglandin E2 synthesis. *Gut.* 2000; 46(2): 191-9.
72. Crespo R, Villaverde M, Girotti J. Cytotoxic and genotoxic effects of defence secretion of *Ulomoides dermestoides* on A549 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011; 136:204–209.
73. Mendoza D. Citotoxic and Genotoxic activity of Phenolic Fractions from *Ulomoides dermestoides* Fairmaire, 1893(Coleoptera, Tenebrionidae), in HaCat cell. *Rev Especializada en ciencias Químico-Biologicas.* 2016; 19(2):83-91.

74. Cupul F. On the use of *Ulomoides dermestoides* (Chevrolat, 1878), (Coleoptera, Tenebrionidae, Diaperini) in beetle-eating therapy: report of a case in Ixtapa, Jalisco, Mexico. *Boln. Asoc. esp. Ent*, 2010; 34:419-422.
75. 63. Mendoza Meza Dary, Sánchez Catalán Karen. Caracterización bioquímica de extractos acuosos de *Ulomoides dermestoides* (coleoptera, tenebrionidae): exploración de la inhibición dual de la lipoxigenasa (15-lox) y ciclooxigenasas (cox-1 y cox-2), *Revista Biosalud* 2016; 16 (2): 37-54.
76. Noa M, Ferreiro R, Sarahí Mendoza S, Valle M. Pathophysiology, treatment and experimental models of rheumatoid arthritis. *Rev Cubana de Farmacia*, 2011; 45:297-30.
77. Justin C. Earp, Debra C. DuBois, Diana S. Molano, Nancy A. Pyszczynski, Richard R. Almon, and William J. Jusko, Modeling Corticosteroid Effects in a Rat Model of Rheumatoid Arthritis II: Mechanistic Pharmacodynamic Model for Dexamethasone Effects in Lewis Rats with Collagen-Induced Arthritis. *Thejournal of Pharmacology and experimental Therapeutics*, 2008; 326:546-554.
78. Developed by Dr. Lewis from Wistar stock in the early 1950s. To Charles River from Tulane in 1970.
79. Dawa Corporation, Belmont, CA. The mode of action of immunological adjuvants. *Developments in Biological Standardization*. 1998; 92:3-11.
80. Núñez, Lozada Requena. Estudio experimental del efecto inmunomodulador del extracto hidroalcohólico de *capsicum annuum* sobre la artritis inducida en ratas.
81. Blumberg SN, Fox DA. Rheumatoid arthritis: guidelines for emerging therapies. *The American Journal of Managed Care*, 2001; 7(6): 617-626.
82. Weiss SJ, Tissue destruction by neutrophils. *NEJM*, 1989;320:365
83. Werb Z, Mainardi CL, Vaser CA, Endogenous activation of latent collagenasa br rheumatoid synovial: evidence for a role of plasminogen activador, *New Engl J, Med*, 1977;296:1017.

12. ANEXO

Anexo 1

Valor nutricional	
E.Metabolizable (mcal/kg)	2,9
Proteína (% min)	17
Lisina (% min)	0,92
Met-Cist (% min)	0,98
Grasa (% min)	6
Calcio(% min)	0,63
Fosforo disponible (% min)	0,37
Fibra (% máx.)	4
Humedad (% máx.)	12

Tabla 9. Valor nutricional de los pelet con que se alimentó a los animales del ensayo.

Anexo 2

Días	control	G- UD2000mg/kg	R- UD2000mg/kg
D1	210	220	215
	220	210	210
	230	215	210
	220	215.00	211.67
D7	235	225	230
	230	230	220
	250	230	225
	238.33	228.33	225.00
D14	240	230	235
	235	240	230
	260	250	245
	245.00	240	236.67

Tabla 10. Control de pesos de las ratas usadas para la prueba de toxicidad aguda DL50.

Anexo 3

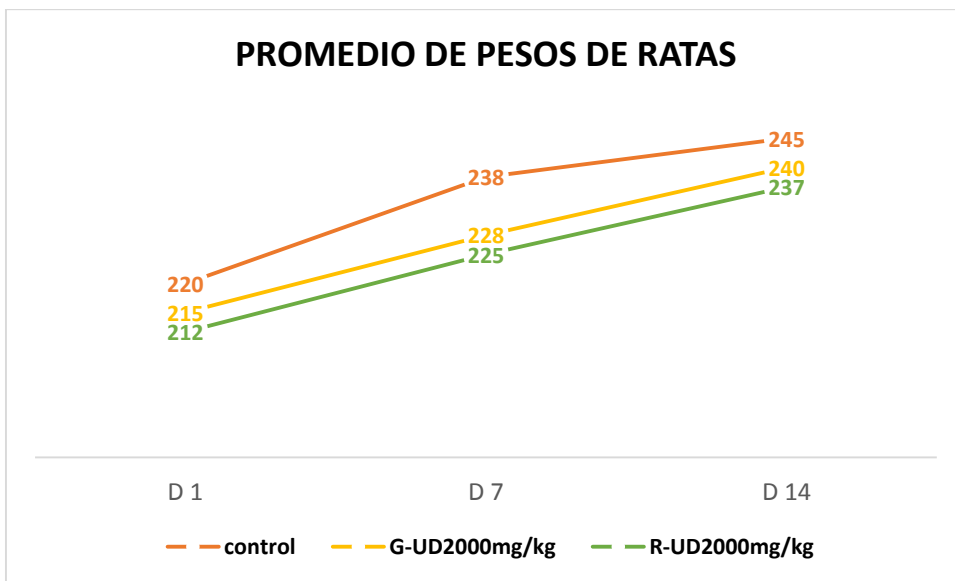


Gráfico 8. Promedio de pesos de las ratas durante la prueba de toxicidad Aguda DL50.

Anexo 4

ANNEX 2d: TEST PROCEDURE WITH A STARTING DOSE OF 2000 MG/KG BODY WEIGHT

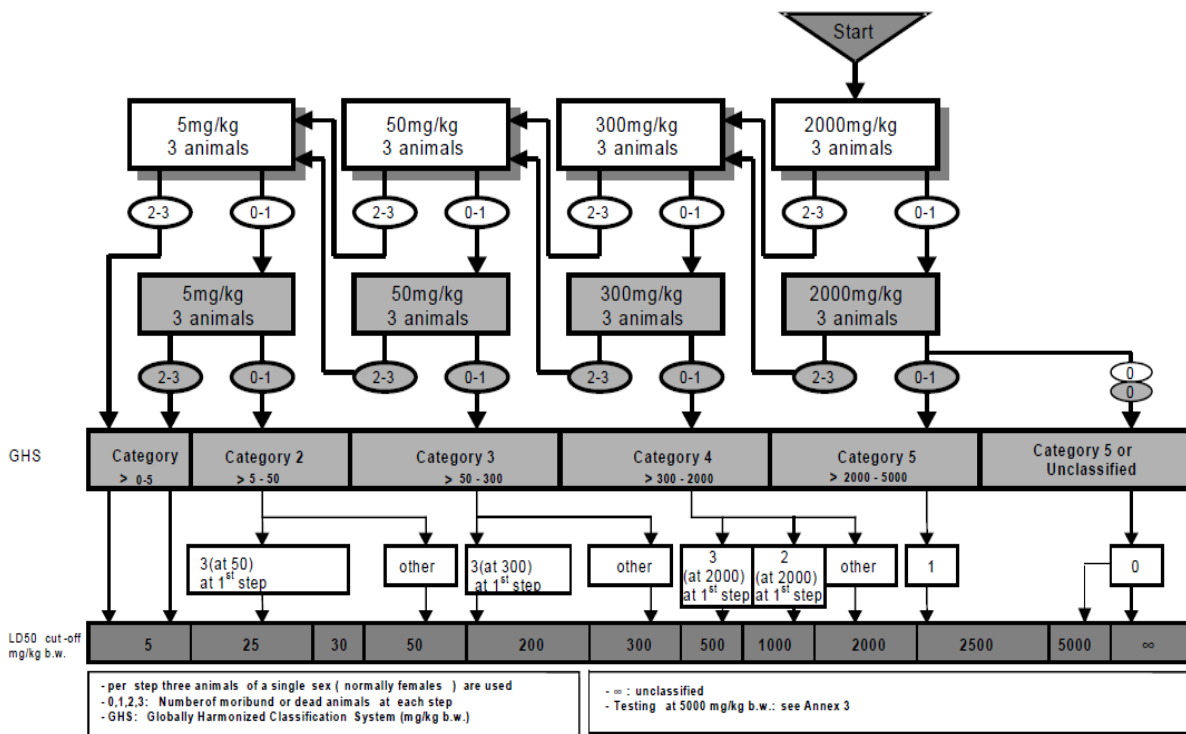
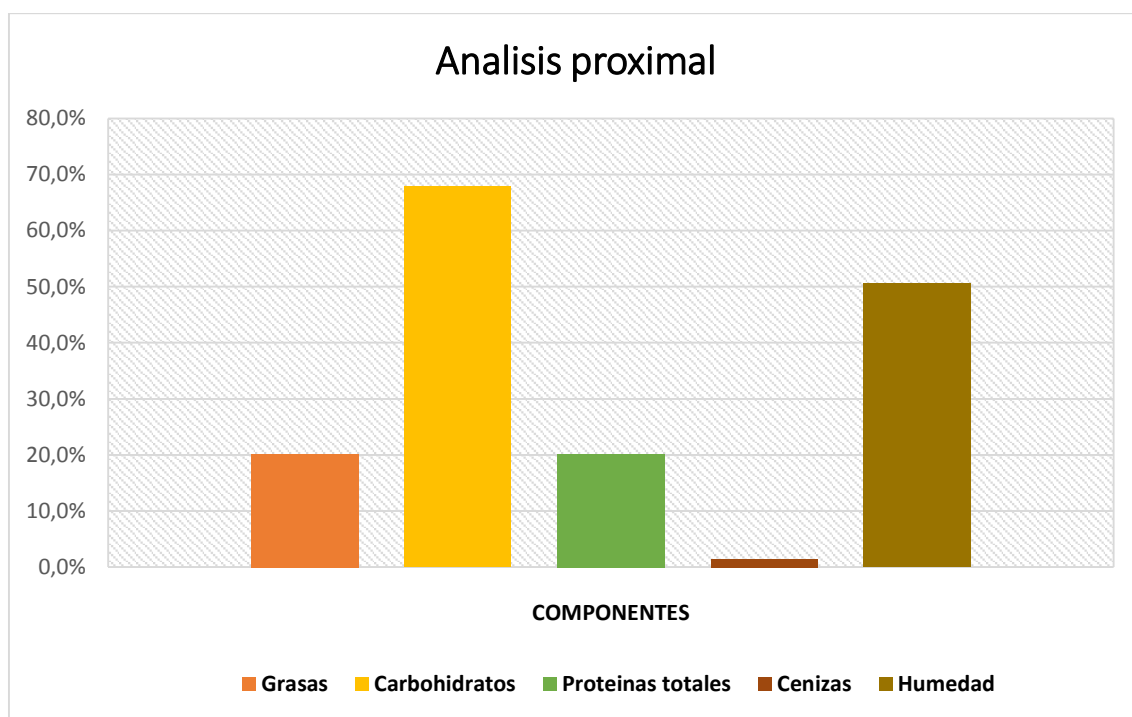


FIGURA 15. procedimiento de prueba con una dosis inicial de 2000 mg / kg de peso corporal.

Anexo 5



*Gráfico 9. Composición química proximal del pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides*.*

Anexo 6

Inducción de Artritis en ratas cepa Lewis



FIGURA 16. Control negativo (ratas Lewis sin inducción por de artritis por colágeno tipo II.



FIGURA 17. Grupo CIA modelo animal ratas cepa Lewis inducidas por colágeno tipo II.

Anexo 7

Tratamiento de las ratas cepa Lewis con un fármaco conocido Metotrexate 0.2mg/kg y el pulverizado de coleóptero *Ulomoides dermestoides* a diferentes concentraciones UD1000mg/kg, UD500mg/kg y UD250mg/kg.



FIGURA 18. Ratas cepa Lewis tratadas con un fármaco conocido Metotrexate INICIO DEL ENSAYO DIA 1.

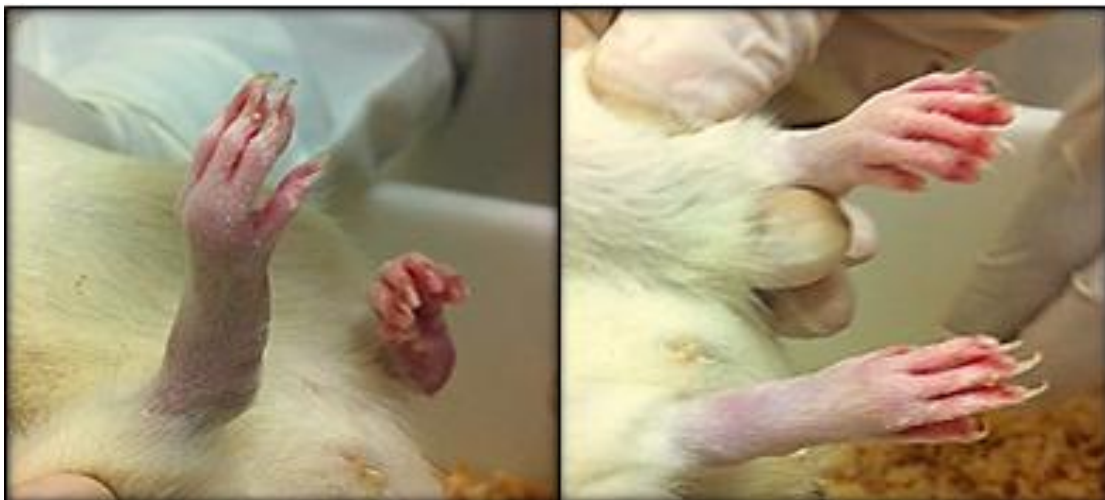


FIGURA 19. Ratas cepa Lewis tratadas con un fármaco conocido Metotrexate FINAL DEL ENSAYO DIA 42.



FIGURA 20. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (UD1000mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 1.



FIGURA 21. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (UD1000mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 42.



FIGURA 22. *Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (UD500mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 1.*



FIGURA 23. *Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (UD500mg/kg) FINAL DEL ENSAYO DIA 42.*



FIGURA 24. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (UD250mg/kg) INICIO DEL ENSAYO DIA 1



FIGURA 25. Ratas cepa Lewis tratadas con el pulverizado de *Ulomoides dermestoides* (UD250mg/kg) FINAL DEL ENSAYO DIA 42.