



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

**EFECTO DE UN GEL PRODUCIDO CON
FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS
DE LISADO PLAQUETARIO (LP) CON O SIN
EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa* EN UN
MODELO ANIMAL DE ATROFIA VAGINAL
POSMENOPÁUSICA**

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN INMUNOLOGÍA

SHALOOM SAMANTHA HURTADO OLLERO

LIMA- PERÚ

2024

ASESOR:

MG. JOSE LUIS AGUILAR OLANO

JURADOS DE TESIS

MG. MILAGROS MARIANN PINTO DIAZ

PRESIDENTE

DR. JHONY CESAR PONCE CANCHIHUAMAN

VOCAL

DRA. NANCY CHILE ANDRADE

SECRETARIA

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia, en especial a mis padres
por su constante apoyo a lo largo de todo este
camino de mi formación académica

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al doctor José Luis Aguilar Olano por su asesoría
en el proyecto y su constante apoyo.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

BECA TEJADA-PORTURAS 2021

DECLARACIÓN DE AUTOR			
FECHA	04	JULIO	2025
APELLIDOS Y NOMBRES DEL EGRESADO	HURTADO OLLERO SHALOOM SAMANTHA		
PROGRAMA DE POSGRADO	MAESTRÍA EN INMUNOLOGÍA		
AÑO DE INICIO DE LOS ESTUDIOS	2022		
TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO	EFECTO DE UN GEL PRODUCIDO CON FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE LISADO PLAQUETARIO (LP) CON O SIN EXTRACTO DE <i>Uncaria tomentosa</i> EN UN MODELO ANIMAL DE ATROFIA VAGINAL POSMENOPÁUSICA		
MODALIDAD DE TRABAJO DE GRADO	Tesis		
Declaración del Autor El presente Trabajo de Grado es original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente.			
Teléfono de contacto (fijo / móvil)	947890916		
E-mail	shaloom.hurtado@upch.pe		



Firma del Egresado

DNI 73490480



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

**EFFECTO DE UN GEL PRODUCIDO CON
FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS
DE LISADO PLAQUETARIO (LP) CON O SIN
EXTRACTO DE *Uncaria tomentosa* EN UN
MODELO ANIMAL DE ATROFIA VAGINAL
POSTMENOPÁUSICA**

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN INMUNOLOGÍA

SHALOOM SAMANTHA HURTADO OLLERO

LIMA- PERÚ

2024



Informe estándar ⓘ

Informe en inglés no disponible [Más información](#)

8% Similitud estándar

[Filtros](#)

Fuentes

Mostrar las fuentes solapadas ⓘ ☐

1 Internet ⓘ

hdl.handle.net 1%

10 bloques de texto 134 palabra que coinciden

2 Trabajos del estudiante ⓘ

Universidad Peruana Cayetano H... <1%

3 bloques de texto 106 palabra que coinciden

3 Internet ⓘ

www.clinicasmatoansorena.com <1%

2 bloques de texto 70 palabra que coinciden

ÍNDICE

RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. HIPÓTESIS	4
IV. MARCO TEÓRICO	4
4.1. Atrofia vaginal	4
4.2. Quitosano	5
4.3. Plasma rico en plaquetas	7
4.4. Uncaria tomentosa	8
V. METODOLOGÍA	8
5.1. Diseño metodológico	8
5.2. Materiales	10
5.2.1 Material biológico	10
5.3. Operacionalización de variables	13
5.4. Modelo animal para la menopausia quirúrgica	14
5.5. Citología vaginal directa	15
5.6. Aplicación de los tratamientos	15
5.7. Medición de concentración de PDGF-BB in vitro	15
5.8. Estudio histológico del tejido vaginal post-tratamiento	
5.9. Estudio ELISA de la concentración de estradiol	16
5.10. Consideraciones éticas	17
5.11. Plan de análisis	18
VI. RESULTADOS	18
6.1 Lavado vaginal	18
6.1.1. Preoperatorio	18
6.1.2. Postoperatorio	19
6.2. Medición de PDGF -BB	20
6.2.2. Curvas de liberación de PDGF-BB	20
6.3. Compuestos del extracto hidroalcohólico de Uncaria tomentosa	21
6.4 Morfología externa de la vulva y útero	22
6.5 Medición de estradiol	22
6.5.1 Curva de calibración	22
6.5.2 Concentración de estradiol preoperatorio y posoperatorio.	22

6.6. Análisis histológico	23
6.6.1. Inflamación vaginal	23
6.6.2. Inflamación nivel de útero	24
6.6.3. Epitelio de revestimiento vaginal	24
6.6.4. Número de capas del revestimiento vaginal.	25
6.6.5. Relación de variables histológicas	27
6.7. Análisis de pesos	35
6.7.1. Peso vaginal	35
6.7.2. Peso útero/ Peso corporal	37
6.7.2. Peso vaginal / Peso corporal	38
VII. DISCUSIÓN	39
VIII. CONCLUSIONES	41
IX. RECOMENDACIONES	42
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
XI. ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1. Fórmula para hallar el tamaño de muestra

Figura N°2. Comparación del epitelio de revestimiento de la vagina.

Figura N°3. Liberación de PDGF - BB de los diferentes grupos.

Figura N°4: Concentraciones de estradiol antes y después de la ovariectomización.

Figura N°5: Porcentajes de casos con inflamación crónica o sin inflamación vaginal.

Figura N°6: Porcentaje de casos con ausencia del epitelio escamoso.

Figura N°7: Número de capas del epitelio de revestimiento vaginal

Figura N°8: Relación entre Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal

Figura N°9: Relación entre N° de capas x Inflamación vaginal

Figura N°10: Relación entre N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal

Figura N°11: Relación entre Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x Inflamación vaginal.

Figura N°12: Diagrama de Peso vaginal

Figura N°13: Comparación de la relación P.útero/P.corporal .

Figura N°14: Diagrama de Peso vaginal/ Peso corporal .

LISTA DE TABLAS

Tabla N°1: Distribución de grupos experimentales.

Tabla N°2: Operacionalización de variables

Tabla N°3 Distribución de grupos in vitro

Tabla N°4: Análisis de muestras citológicas preoperatorias

Tabla N°5: Concentraciones de PDGF-BB de los diferentes grupos

Tabla N°6: Cuantificación de polifenoles en el extracto de corteza *U. tomentosa*

Tabla N°7: . Resultados del análisis de fenoles totales y evaluación del potencial antioxidante del extracto de corteza de *U. tomentosa*

Tabla N°8: Comparación con el C0 y C2 sobre la inflamación vaginal

Tabla N°9: Comparación con los controles respecto al epitelio de revestimiento en la vagina

Tabla N°10: Comparación con los controles por número de capas.

Tabla N°11: Tabla de contingencia de Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal

Tabla N°12: Chi- cuadrado de Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal

Tabla N°13: Odds ratio (OR) de Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal

Tabla N°14: Tabla de contingencia del N° de capas x Inflamación vaginal

Tabla N°15: Chi- cuadrado de N° de capas x Inflamación vaginal

Tabla N°16: Prueba de V de Cramer de la relación entre N° de capas x Inflamación vaginal

Tabla N°17: Tabla de contingencia del N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal

Tabla N°18: Chi- cuadrado de N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal

Tabla N°19: Prueba de V de Cramer de la relación entre N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal

Tabla N°20: Tabla de contingencia del Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x inflamación vaginal

Tabla N°21: Chi- cuadrado de Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x Inflamación vaginal

Tabla N°22: Prueba de V de Cramer de la relación entre Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x Inflamación vaginal

Tabla N°23: Prueba de Welch para el Peso Vaginal

Tabla N°24 : Comparación de las medias del C0 con los otros grupos del Peso vaginal.

Tabla N°25 : Comparación de las medias en parejas.

Tabla N°26 : Comparación de las medias en parejas.

LISTA DE ANEXOS

Anexo N°1: Datos de la absorbancia para la curva de calibración de la concentración de PDGF-BB

Anexo N°2: Curva de calibración de la concentración de PDGF-BB (pg/ml)

Anexo N°3. Estructuras generales de los polifenoles encontrados en el extracto de corteza de *Uncaria tomentosa*.

Anexo N°4: Datos de la absorbancia para la curva de calibración de la concentración de estradiol.

Anexo N°5 Curva de calibración de la concentración de Estradiol(pg/ml)

Anexo N°6 Comparación por parejas de inflamación vaginal por Kruskal-Wallis

Anexo N°7 Comparación por parejas del epitelio de revestimiento por Kruskal-Wallis.

Anexo N°8 Comparación por parejas del número de capas del epitelio vaginal por Kruskal-Wallis.

Anexo N° 9 Prueba de normalidad por Kolmogorov-Smimpov para los pesos.

Anexo N° 10 Comparación de medias por parejas por Games-Howell.

Anexo N° 11 Prueba de levene para la homogeneidad.

Anexo N° 12 Comparación en parejas del Peso de útero (mg) por Kruskal-Wallis con una corrección de bonferroni.

Anexo N° 13 Comparación en parejas de la relación de Peso vaginal/Peso corporal.

Anexo N° 14 Comparación en parejas de la relación de Peso utero/Peso corporal.

Anexo N° 15 Comparación en parejas de la relación de Peso utero/Peso vaginal por Kruskal-Wallis con una corrección de bonferroni.

RESUMEN

El climaterio y la menopausia son etapas importantes en la vida de toda mujer. Durante la etapa postmenopáusica se han demostrado diversos cambios, incluyendo entre otros la atrofia de la mucosa vaginal y predisposición a inflamación persistente, generando así una disminución en la calidad de vida. Se usó un gel polimérico a base de quitosano que sirva de matriz para compuestos naturales: factores de crecimiento derivados de plasma rico en plaquetas (PRP) y un extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* (UG) para su aplicación en la cavidad vaginal de un modelo animal menopáusico con atrofia vaginal. La concentración de 20% de lisado plaquetario (LP) con o sin UG dio resultados similares a tratamiento con estrógeno, reparando el epitelio escamoso, incrementando el número de capas del revestimiento vaginal y con una ausencia de inflamación crónica. En el caso del LP al 30% actuando solo repara el epitelio vaginal y no hubo inflamación, pero al unirse con la UG, no generó una reparación tisular al presentar inflamación crónica. Con los datos obtenidos se propone que el LP al 20% revirtió la atrofia vaginal sin daños colaterales. Este preparado podría brindar una alternativa de manejo para poder mejorar las características clínicas e histológicas de los tejidos vaginales postmenopáusicos.

Palabras clave: Atrofia vaginal, Lisado plaquetario, *Uncaria tomentosa*, Reparación tisular, antiinflamatorio.

ABSTRACT

Climacteric and menopause are important stages in every woman's life. During the postmenopausal stage, several changes have been demonstrated, including, among others, atrophy of the vaginal mucosa and a predisposition to persistent inflammation, thus generating a decrease in quality of life. A chitosan-based polymer gel was used as a matrix for natural compounds: growth factors derived from platelet-rich plasma (PRP) and a hydroalcoholic extract of *Uncaria tomentosa* (UG) for application in the vaginal cavity of a menopausal animal model with vaginal atrophy. A 20% concentration of platelet lysate (PL) with or without UG gave similar results to estrogen treatment, repairing the squamous epithelium, increasing the number of layers of the vaginal lining, and with an absence of chronic inflammation. In the case of 30% PL, acting alone, it repaired the vaginal epithelium and showed no inflammation, but when combined with UG, it did not generate tissue repair due to chronic inflammation. Based on the data obtained, it is proposed that 20% LP reversed vaginal atrophy without collateral damage. This preparation could provide an alternative management option to improve the clinical and histological characteristics of postmenopausal vaginal tissues.

Keywords: Vaginal atrophy, Platelet lysate, *Uncaria tomentosa*, Tissue repair, anti-inflammatory.

Abreviaturas:

TRH: Terapia de reemplazo hormonal

FSH: Hormona folículo estimulante

TNF- α : Factor de necrosis tumoral α

PRP: plasma rico en plaquetas

UG: *Uncaria tomentosa*

LP: Lisado plaquetario

HLPC: Cromatografía Líquida Alta Eficiencia

TET: Translocación diez-once

ORAC: Capacidad de Absorbancia del Radical Oxígeno

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo

PDGF: Factores de crecimiento derivado de las plaquetas.

TGF: Factores de crecimiento transformador

PDAF: Factor angiogénico derivado de las plaquetas.

VEGF: Factor de crecimiento vascular endotelial

EGF: Factor de crecimiento epidérmico.

IGF: Factor de crecimiento parecido a la insulina

PBS: Solución salina tamponada con fosfato.

I. INTRODUCCIÓN

La menopausia es el final de la etapa fértil de toda mujer, es definida clínicamente con el cese permanente de la menstruación debido a la disminución de los niveles de estrógeno. La etapa siguiente a ésta es la postmenopausia, cuyo periodo es de vital importancia en toda mujer, pues está presente casi en el 40 % de su vida. Es necesario resaltar el alto riesgo que existe durante este periodo por el desarrollo de sintomatología clínica (Su & Freeman, 2009). Dentro de los síntomas que se pueden desarrollar se encuentran los bochornos, cambios de ánimo y sobre todo, la atrofia vaginal que causa gran pérdida de la calidad de vida (Malacara et al., 2002).

Debido a la sintomatología presentada durante el periodo posmenopáusico, se han desarrollado tratamientos como terapia de reemplazo hormonal (TRH) que emplea hormonas convencionales o productos similares estrogénicos sintéticos que ayudan a disminuir síntomas de la atrofia vaginal. Estos fármacos han logrado disminuir el desarrollo de algunas de estas complicaciones, sin embargo, no han disminuido otras dolencias postmenopáusicas y, además, en algunos casos no son de uso frecuente debido a los efectos adversos y altos costos, lo cual conlleva a la persistencia de las molestias posmenopáusicas y así manteniendo la disminución de la calidad de vida.

Durante el periodo de la menopausia, es conocido el cambio a nivel hormonal como la disminución de los niveles de estrógeno y el incremento de la hormona folículo estimulante (FSH), pero además, también se ha identificado incremento espontáneo de citocinas pro-inflamatorias como: IL-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral α (TNF- α), hecho que genera un ambiente de inflamación crónica de bajo grado (Abu-Taha et al., 2009). Asimismo, se desarrollan otros cambios como pérdida del tono vascular y aumento de expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales (Arenas et al., 2005). Todos los cambios mencionados ocurren a nivel sistémico en todo el organismo de la mujer, sin embargo, también se ha demostrado que estos eventos se producen a nivel local, por ejemplo, a nivel del tejido vaginal, se produce inflamación crónica en el epitelio provocando así el desarrollo de la sintomatología descrita anteriormente (Irimia et al., 2018). En tal sentido, disminuir la inflamación crónica podría lograr una mejora del epitelio vaginal logrando así una mejoría clínica.

Por lo tanto, la comunidad médica aún se encuentra en búsqueda de algún fármaco que pueda ayudar en la disminución de estos síntomas. El presente estudio plantea lograr disminuir la atrofia vaginal mediante el uso de sustancias que podrían contribuir a disminuir los niveles de inflamación, dentro de estas se encuentran los polímeros de gel, plasma rico en plaquetas y *Uncaria tomentosa* (UG).

Los polímeros usados deben ser capaces de ser compatibles con las diferentes condiciones de la cavidad vaginal, resistir a los cambios de pH, poseer elevada mucoadhesividad, facilitar la penetración a la mucosa vaginal ayudando así a una apropiada liberación de los factores de crecimiento y proporcionar estabilidad en los fluidos vaginales. Dentro de los polímeros ampliamente investigados, se encuentra el quitosano, derivado del polímero natural quitina, el cual fue utilizado en el gel producido para este estudio debido a que posee las propiedades anteriormente mencionadas (Gupta & Vyas, 2010) y el cual ya ha sido trabajado en un estudio previo en el laboratorio de Inmunología de UPCH (Cabrel et al., 2019).

El plasma rico en plaquetas (PRP) está adquiriendo un rol en el ámbito de la ginecología en los últimos años en los cuales se han visto buenos resultados en las diferentes aplicaciones como reconstrucción vulvar, cicatrización de heridas y lesiones cutáneas (Dawood & Salem, 2018). En un modelo de rata, se ha utilizado PRP autóloga (sangre de la misma especie) demostrando su eficiencia en la curación de heridas cutáneas y en la regeneración del endometrio (Jang et al., 2017). Sin embargo, también se ha trabajado con el plasma rico en plaquetas derivado de sangre humana que fue utilizada sobre un modelo animal de ratas, en el cual se obtuvieron resultados favorables (Cerón Tello, 2018)). Debido a que este producto cuenta con antecedentes favorables para el objetivo del estudio, se empleó como un aditivo adicional para el gel, asimismo, se propone usar los factores de crecimiento liberados en el lisado plaquetario (LP) del PRP para evitar incompatibilidad.

En cuanto a la UG, ha sido usada para diversas dolencias, como agente anti-mutagénico, antiviral, antioxidante y antiinflamatorio (Heitzman et al., 2005). Ésta contiene una serie de metabolitos secundarios tales como alcaloides pentacíclicos, los cuales han demostrado ejercer efectos antiinflamatorios, apoptóticos e inmunomoduladores (Aquino et al., 1989). Este último rol es a través de la inhibición

de citoquinas pro-inflamatorias como TNF- α , IL-6, y una tendencia hacia la modulación de IL-10 (Dreifuss et al., 2010; Rojas et al., 2019). Para lograr este efecto, se ha demostrado que inhibe la activación de factores de transcripción como NF- κ B (Laus et al., 1997; Aguilar et al., 2002) pudiendo ayudar a la desinflamación del tejido. Debido a que cuenta con actividad inhibitoria sobre las citocinas antes mencionadas, la *Uncaria tomentosa* también se ha tomado en cuenta para la formulación del gel.

Este estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la combinación de factores de crecimiento derivados del lisado plaquetario con o sin un extracto estandarizado de UG, en la mejoría del índice clínico e histología vaginal en modelo experimental postmenopáusico de ratas.

II. OBJETIVO

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la combinación de un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP con o sin extracto de UG, en su capacidad de mejorar los parametros clinicos, la reparación tisular y producir un efecto antiinflamatoria frente a la atrofia vaginal posmenopáusica en animales

2.2. Objetivos específicos

- Identificar el efecto de un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP sobre su capacidad de mejorar la reparación tisular frente a la atrofia vaginal en un modelo animal postmenopáusico
- Identificar el efecto de un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP sobre su capacidad de producir un efecto antiinflamatorio frente a la atrofia vaginal en un modelo animal postmenopáusico
- Estudiar el efecto de un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP con un extracto estandarizado de UG sobre su capacidad de mejorar la reparación tisular frente a la atrofia vaginal en un modelo animal postmenopáusico.
- Estudiar el efecto de un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP con un extracto estandarizado de UG sobre su capacidad de producir un efecto antiinflamatorio frente a la atrofia vaginal en un modelo animal postmenopáusico.

- Identificar el efecto de un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP sobre su capacidad de mejorar de los parámetros clínicos frente a la atrofia vaginal en un modelo animal postmenopáusico
- Identificar el efecto de un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP con un extracto estandarizado de UG sobre su capacidad de mejorar de los parámetros clínicos frente a la atrofia vaginal en un modelo animal postmenopáusico

III. HIPÓTESIS

Ho: Un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP con o sin extracto de UG tiene la capacidad de mejorar la reparación tisular y producir un efecto antiinflamatorio frente a la atrofia vaginal posmenopáusica en animales.

H1: Un gel compuesto de una matriz de quitosano con LP con o sin extracto de UG no tiene la capacidad de mejorar la reparación tisular y producir un efecto antiinflamatorio frente a la atrofia vaginal posmenopáusica en animales.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1. Atrofia vaginal

Cada organismo pasa por el proceso de envejecimiento el cual es un proceso complejo y multifactorial, este puede estudiarse tanto a nivel sistémico como también de acuerdo a cada tejido y órgano específico. En particular, el envejecimiento a nivel vaginal involucra la atrofia y el síndrome genitourinario asociado a la menopausia, ambos afectan la calidad de vida de las mujeres. Existen múltiples procesos asociados a los cambios vaginales como la disminución de los niveles de estrógenos, alteraciones en la flora bacteriana endógena y cambios epigenéticos relacionados con la metilación del ADN. En cuanto al cambio del microbioma, durante el periodo de la menopausia, las colonias de *Lactobacillus* se ven disminuidas mientras que las bacterias patógenas son las que aumentan en cantidad. Por otro lado, la reducción de los niveles de estrógenos produce cambios como la disminución de la permeabilidad, perfusión y niveles de elastina en el epitelio vaginal; todos estos cambios conducen a la sequedad y atrofia vaginal. En cuanto a nivel molecular, aún no hay modelos claros, pero se postula que, así como en otros tejidos estudiados, ocurren modificaciones en la metilación de la citosina y en la expresión de la proteína TET (translocación diez-once por sus siglas en inglés) (Szymański et al., 2021).

Actualmente, se tienen terapias hormonales para la vaginitis atrófica (o atrofia vaginal) que pueden dividirse en tratamiento local como cremas con estrógenos o sistémicos que incluyen píldoras, parches, geles o aerosoles. También se incluyen terapias no hormonales como hidratantes vaginales, lubricantes, dehidroepiandrosterona que ayuda en la función y estructura vaginal (Labrie et al., 2018; Suckling et al., 2006).

Por otro lado, existen tratamientos que incluyen láser CO₂ fraccionado para incrementar el colágeno en la mucosa vaginal con la finalidad de ayudar en la hidratación y elasticidad del área, se ha observado que el manejo con radiofrecuencia también ayuda con similares fines. Finalmente, se encuentran los tratamientos más conservadores como realizar ejercicio regular, dieta saludable con fitoestrógenos, evitar irritantes como perfumes y jabones fuertes, así como mantener un régimen de relaciones sexuales regulares que aumenta la elasticidad. (Avis et al., 2015; Salvatore et al., 2014)

4.2. Quitosano

El quitosano es un polisacárido derivado de la quitina. Este polímero natural es la forma N-desacetilada de la quitina, y está compuesto por monómeros de N-acetilglucosamina y D-glucosamina. Se encuentra abundantemente en el exoesqueleto de crustáceos, insectos y artrópodos, así como en la pared celular de los hongos. La quitina marina (conchas de gambas, langostas y cangrejos) es la fuente principal del quitosano comercialmente disponible (Kaur et al., 2022).

El quitosano es conocido por ser una molécula bioactiva que cuenta con propiedades como biodegradabilidad, compatibilidad biológica, actividad antimicrobiana y antioxidante; este tiene potencial para numerosas aplicaciones. Tiene múltiples presentaciones como fibras, geles, películas, esponjas, nanopartículas y perlas. Debido a sus diversas acciones a nivel biológico es objeto de amplias investigaciones para expandir sus aplicaciones en diferentes campos (Abd El-Hack et al., 2020; Kong et al., 2010).

El quitosano puede modificarse químicamente para resolver el problema de su baja solubilidad en agua y disolventes orgánicos comunes. Además, la incorporación de nuevas moléculas en la cadena polimérica puede mejorar otras propiedades del

quitosano, haciéndolo más adecuado para aplicaciones farmacéuticas (Jayakumar et al., 2010).

Por ello, aquellos oligosacáridos de quitosano con bajo grado de polimerización que cuentan con menor viscosidad y mayor solubilidad en agua están recibiendo notable atención en aplicaciones médicas debido a sus mejores resultados. Se destaca su uso como en productos para la cicatrización de heridas, tratamiento de aguas residuales y cosméticos (Eivazzadeh-Keihan et al., 2022; Kong et al., 2010).

Su uso terapéutico se ha visto en medicina regenerativa y reparación de tejidos pues permite la adhesión y proliferación celular, además de favorecer la curación de heridas mediante sus propiedades antimicrobianas y hemostáticas (Eivazzadeh-Keihan et al., 2022; Mawazi et al., 2024), los ensayos clínicos demostraron la eficacia en el tratamiento de úlceras del pie diabético (Totsuka Sutto et al., 2018). También ayuda en mejorar las propiedades farmacocinéticas de las drogas como incrementando su biodisponibilidad al promover una liberación prolongada, asimismo permite abrir las uniones estrechas de los epitelios nasales e intestinales aumentando la tasa de absorción de los fármacos anticancerígenos, antiinflamatorios y antibióticos, se ha observado que este producto podría ser utilizado en el campo de la oftalmología para lubricar el ojo y así ser usado para el síndrome del ojo seco (Mawazi et al., 2024).

El quitosano por sí mismo tiene propiedades antibacteriana, antimicótica y antiviral, por ello, puede ser usado en el área de odontología para prevenir la formación de placas dentales y caries. Por otro lado, se puede utilizar en el campo de la cardiología intervencionista para el uso de stents pues puede mejorar la biocompatibilidad y reducir el riesgo de reestenosis. En el ámbito de la oncología, el quitosano puede favorecer una liberación controlada de fármacos lo cual promueve una reducción de los efectos adversos e incrementa la eficacia. (Eivazzadeh-Keihan et al., 2022; Mawazi et al., 2024)

La capacidad de formación de hidrogeles del quitosano, es ideal para la aplicación de la curación en heridas, debido a que estos hidrogeles proporcionan un ambiente húmedo que es favorable para la cicatrización.

4.3. Plasma rico en plaquetas

El plasma rico en plaquetas (PRP) se obtiene luego de procesar la sangre periférica y corresponde a una fracción líquida que contiene una concentración de plaquetas superior a la normal. Las plaquetas contenidas en el PRP liberan una variedad de factores de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformador (TGF), factor angiogénico derivado de las plaquetas (PDAF), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), y factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF), entre otros. Estos factores estimulan la proliferación, migración y diferenciación celular, así como la síntesis de la matriz extracelular, lo que es crucial para la cicatrización y regeneración de tejidos.

El uso del PRP inició hace más de 30 años para diversas indicaciones, despertando un gran interés por el potencial del uso en la medicina regenerativa. Su uso en la medicina se basa en que dicho compuesto facilita la cicatrización y reparación de heridas mediante factores de crecimiento plaquetario que intervienen en la inflamación, proliferación y remodelación; incluso tiene eficacia para el tratamiento de heridas crónicas, como úlceras por diabetes y quemaduras (Pineda-Cortel et al., 2023).

Actualmente, las terapias que involucran el uso de PRP ofrecen beneficios clínicos con resultados alentadores para los pacientes, por ejemplo, en la medicina regenerativa, se emplea para el tratamiento de trastornos musculoesqueléticos, de la columna vertebral, osteoartritis y heridas crónicas complejas (Everts et al., 2020); como parte de las nuevas terapias celulares.

Además, también tiene uso en el campo de dermatología estética como un agente para mejorar la calidad de piel, tratar cicatrices y rejuvenecimiento facial (Number 5, 2019). Debido a su capacidad de favorecer la proliferación celular y regeneración celular, se utiliza como adyuvante para condiciones de infertilidad como síndrome de ovario poliquístico, síndrome de Asherman e insuficiencia ovárica prematura (Wang et al., 2024).

A pesar de los numerosos estudios que han evaluado diferentes formulaciones de PRP en humanos, in vitro y en animales, los resultados clínicos son inconsistentes por la dificultad al trasladar los hallazgos de estudios no clínicos a tratamientos en humanos. Recientemente, se han logrado avances en la comprensión y bioformulación del PRP, lo que ha resultado en nuevas directrices de investigación y aplicaciones (Rodríguez Flores et al., 2012).

4.4. *Uncaria tomentosa*

La *Uncaria tomentosa* ha sido utilizada tradicionalmente por los grupos amazónicos para tratar enfermedades inflamatorias. En una revisión sistemática, se encontró que muchos extractos de corteza de tallo, raíces y hojas de *U. tomentosa*, principalmente acuosos e hidroetanólicos, tienen actividades antiinflamatorias e inmunomoduladoras y presentan baja toxicidad. Esta tiene un derivado que actúa mediante la reducción de los niveles de factor nuclear kappa-B (NF- κ B) e interleucina-6 (IL-6). Debido a sus propiedades antiinflamatorias demostradas, se plantea que esta especie podría ser útil para tratar enfermedades inflamatorias crónicas con una baja toxicidad, respaldando su uso farmacológico (Arado et al., 2024).

Por otro lado, se ha encontrado que cuenta con actividad antioxidante y reduce el envejecimiento mediante su acción sobre la reparación de ADN y mejora de la función inmunológica favoreciendo la integridad celular (Extract of *Uncaria Tomentosa*, AC-11®, s. f.).

En un estudio se demostró su capacidad de inhibición de la producción de TNF- α en un 65 a 85%. Esto se debe a que la UT tiene gran cantidad de flavonoides que es uno de los compuestos que le dan la propiedad antiinflamatoria (Rojas et al., 2019). Estos flavonoides pueden unirse a los receptores de estrógeno porque tienen una estructura y actividad similares a los estrógenos endógenos (Sandoval et al., 2000).

V. METODOLOGÍA

5.1. Diseño metodológico

El presente estudio experimental fue realizado en un modelo animal posmenopáusico de ratas *Sprague Dawley*. (Yang et al., 2022) El tamaño muestral fue calculado de

acuerdo a la fórmula en base a lo descrito por Angulo en 2017, donde encuentra un 86.7% de éxito en la reparación epitelial con el plasma rico en plaquetas y Aguilar en 2002 con un 51.7% de éxito en la recuperación con *Uncaria tomentosa*. Se asumirá el porcentaje de éxito en un 95% a la sinergia de estos componentes. En base a esto para determinar con un nivel de confianza 95% y una potencia 80% si la proporción 51.7% de la muestra A es menor que la proporción 95% de la muestra B, o si 95% es mayor que 51.7% se necesitará una muestra de 9 individuos.

H1: $P_1 < P_2$, o $P_1 > P_2$ (contraste unilateral)

$$n = \frac{\left(Z_{\alpha} \sqrt{2\bar{P}(1-\bar{P})} + Z_{\beta} \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)} \right)^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

$$\bar{P} = \frac{P_1 + P_2}{2}$$

Figura N°1. Fórmula para hallar el tamaño de muestra

Los diferentes tratamientos se administraron por vía vaginal y el diseño experimental fue distribuido en los siguientes grupos:

Tabla N°1: Distribución de grupos experimentales.

Grupo	Muestra	Tratamiento
Control Blanco (C0)	9	ratas sanas sin prueba experimental.
Control Negativo (C1)	9	ratas ovariectomizadas sin tratamiento
Control Positivo (C2)	9	ratas ovariectomizadas con tratamiento de estrógenos tópicos
Grupo Tratado A	9	ratas ovariectomizadas con tratamiento LP al 20%
Grupo Tratado B	9	ratas ovariectomizadas con tratamiento con LP 20% y UG a 200 ug/ml
Grupo Tratado C	9	ratas ovariectomizadas con tratamiento con LP 30%

Grupo Tratado D	9	ratas ovariectomizadas con tratamiento con LP 30% y UG a 200 ug/ml
Grupo Tratado E	9	ratas ovariectomizadas con tratamiento con UG al 200 ug/ml

5.2. Materiales

5.2.1 Material biológico

a) Animales

Ratas Sprague Dawley hembras con 3 meses de edad (entre 12 a 15 semanas de vida) y con un peso promedio de 260 g, obtenidos del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Lima, Perú). Se albergaron tres ratas por jaula, alimentadas adecuadamente con agua y comida *ad libitum*, el alimento utilizado fue ratonina (actualmente usado en el bioterio UPCH) el cual no contiene fitoestrógenos que podrían alterar los resultados, los animales fueron sometidos a ciclo luz-día de 12 horas y en condiciones normales de humedad de 70-80% relativa y temperatura de 20-26°C. Los grupos fueron seleccionados al azar. Al término del estudio, se aplicó eutanasia, haciendo uso de Pentobarbital sódico (Halatal) en dosis de 100mg/kg (Marshall et al., 1994), para evitar sufrimiento del animal.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de animales de la UPCH con código 210380

b) Plasma rico en plaquetas

Se obtuvo plasma rico en plaquetas de 6 donantes humanos sanos, proporcionado por el Banco de Sangre del Hospital Nacional Cayetano Heredia (HNCH). El donante fue informado del proyecto y dio su consentimiento informado aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación para Seres Humanos de la UPCH y del Comité Institucional de ética en Investigación del HNCH. Los procedimientos a realizar son los siguientes:

El donante fue evaluado en el Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre del HNCH, realizándose para ello un examen médico y pruebas laboratoriales

para enfermedades que puedan transmitirse por la sangre y exámenes hematológicos para determinar la cantidad de plaquetas.

Luego de haber sido seleccionado como posible donante, se le explicó el proyecto, su participación voluntaria y firmó su consentimiento informado para ingresar en el estudio.

Se conectó al donante por medio de la vena media del brazo derecho o izquierdo a un equipo usando para ello un sistema de recolección descartable (no reusable), de uso único y sobre el cual se obtuvo la sangre y se separó las plaquetas colocándolas luego en una bolsa de 200 ml.

El resto de los componentes de la sangre del donante se devolvieron continuamente al donante.

El procedimiento para obtener una dosis terapéutica convencional tomó entre 60 y 70 minutos.

Proceso de reclutamiento:

Se buscó pacientes voluntarios que se encuentren como donantes en el Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre del HNCH, además, que busquen formar parte del proyecto, se les encuestó si desean formar parte y se les dio el consentimiento informado para que sepan correctamente los procedimientos que se van a realizar.

Criterios de Inclusión:

Se usó los requisitos dados por el INEN. Contar con buena salud, mayores de edad, pesar más de 50 kilos, no haber donado sangre en los 3 meses anteriores si es hombre; 4, si es mujer. No haberse realizado tatuajes o perforaciones en los últimos 12 meses y no haber tenido hepatitis B, hepatitis C, sífilis o prueba positiva de VIH.

Criterios de Exclusión:

Personas con enfermedades que se puedan transmitir por vía sanguínea, menores de edad y aquellos que padezcan de trombocitopenia.

Proceso de obtención de Plasma rico en plaquetas:

Aquellos donantes que hayan aceptado se les colocó una vía en la vena media del brazo derecho o izquierdo para conectarla a un equipo usando un sistema de recolección descartable (no reusable), de uso único y sobre el cual se obtuvo la sangre y se separó las plaquetas colocándolas luego en una bolsa de 200ml.

Preparación de lisado plaquetario (LP):

Para tener una concentración de factores de crecimiento de plaquetas libre de células, el PRP pasó por un proceso de shock térmico y se eliminó el coágulo de fibrina con Gluconato de calcio al 10%:

1. Las bolsas donadas pasaron por dos ciclos de congelado (-80°C) y descongelado (37°C).
2. Luego se centrifugó a 5000 rpm por 15 min en una centrífuga refrigerada.
3. Se separó el sobrenadante y se añadió 20mM de gluconato de calcio al 10% con respecto al total.
4. Se incubó por 2 horas a 37°C y luego se incubó toda la noche a 4°C.
5. Se volvió a centrifugar a 5000 rpm por 15 min.
6. El sobrenadante se extrajo, el cual es el LP y se dividió de acuerdo al % que le toca a cada grupo.

c) Extracto hidroalcohólico

Se utilizó el polvo seco donado por la Dra Mirtha Navarro de la corteza de la *Uncaria tomentosa* de Costa Rica, con código 6.999, su técnica de secado fue descrita en (Navarro Hoyos et al., 2015) usando metanol (MeOH). Fue reconstituido con alcohol de 20° y se midió los compuestos polifenólicos por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).

d) Quitosano

Donado por el Dr José Bauer el polvo de quitosano, obtenido de la pluma de calamar, este polvo tiene 86% de desacetilación y un % de humedad de

4.223%, fue triturado con un molino analítico y tamizado por malla de acero W.S. Tyler n°60.

e) Gel

Se preparó una solución de quitosano al 2.4% w/v en ácido acético al 2% (Debnath et al., 2015) y fenoxietanol al 0.5% mediante agitación continua hasta su disolución completa. La esterilización de la mezcla de polímeros se realizó en autoclave a 80°C por 7 minutos de acuerdo a la metodología de (Ağcam et al., 2018). El extracto hidro-alcohólico de *Uncaria tomentosa* rico en fenoles medidos por HPLC se añadió en agitación constante en los 3 grupos que le corresponde y luego se agregó el lisado plaquetario al 20% o 30% con agitación constante, quien previamente pasó por un filtro de 0.22µm para asegurar la esterilidad realizando todo el proceso en una cabina de flujo. Se mantuvo en la incubadora a 37°C hasta que terminaron los días de tratamiento.

5.3. Operacionalización de variables

Variable	Definición	Naturaleza de la variable	Indicador	Escala de medición	Instrumento
Dependiente: Atrofia vaginal	Efecto inflamatorio	Cualitativo	Fibroblastos macrofagos	2=Inflamación crónica.	Microscopio
			Edema Fibrina Polimorfonucleares	1=Inflamación aguda	Microscopio
			Ausencia de los ítems anteriores	0=Sin inflamación	Microscopio
	Daño tisular (Epitelio de revestimiento)	Cualitativo	Plano que se encuentra en la superficie	0=Epitelio escamoso 1= Parabasal	Microscopio
			Número de capas del epitelio de	1=1 a 2 capas 2=3 a 4 capas 3=5 a 6 capas	Microscopio

			revestimiento	4=7 a 8 capas 5=9 a 10 capas 6=11 a 12 capas 7=13 a 14 capas	
	Parámetro clínico	Cualitativo	Color de la vulva	0=Rojo 1=Rosáceo	
			Orificio	0=Dilatado 1=Contraído	
Independiente : Gel	Uña de gato (Uncaria tomentosa)	Cuantitativo	El gel proviene de un extracto hidroalcohólico de la Uña de Gato.		Sistema de cromatografía líquida (HPLC) de alta performance
	Lisado Plaquetario 20 y 30%	Cuantitativo	Factores de crecimiento en diferentes concentraciones	Según el Kit	Kit de ELISA Human PDGFBB modelo ELK2289

Tabla N°2: Operacionalización de variables

5.4. Modelo animal para la menopausia quirúrgica

Todos los grupos excepto el Control Positivo pasaron por la cirugía en el LID - laboratorio 108 de la UPOCH por la bióloga (capacitada en el proceso de ovariectomía [SSHO]). Se realizó la ooforectomía bilateral en los Laboratorios de investigación siguiendo el protocolo de Abramov (Abramov et al., 2011). Se anestesiaron de forma intramuscular con ketamina 50 mg/kg y xilacina 10mg/kg. Luego se procedió con la rasuración del abdomen del animal. Se realizó asepsia y antisepsia con solución de gluconato de clorhexidina al 4% y alcohol yodado de forma tópica, se realizó una incisión en la línea media del hemiabdomen inferior de 5 cm. La arteria y vena ovárica se ligaron con ácido poliglicólico 3-0 y los ovarios fueron retirados. Finalmente, se procedió con el cierre de la incisión abdominal en 2 planos con hilo de ácido poliglicólico 2-0. Los siguientes cuatro días recibieron tramadol 10 mg/kg y enrofloxacino 10 mg/kg al día vía subcutánea, para el control del dolor y como profilaxis antibiótica de la cirugía.

5.5. Citología vaginal directa

La citología vaginal directa se realizó en 2 momentos, el primero fue 2 semanas antes de la cirugía para corroborar el ciclo estral de las ratas y luego de 4 semanas de la ovariectomía para verificar la ausencia de la fase estro. Durante 5 días consecutivos se hicieron lavados vaginales con 200 uL – 300 uL de solución salina en una pipeta estéril, introduciendo 5mm de profundidad, expulsando y aspirando el líquido 3 veces. Se leyeron las muestras en el microscopio y se analizaron tipos de células para identificar la fase del ciclo estral (Romero et al., s. f.).

5.6. Aplicación de los tratamientos

Después de 10 días de haberse realizado la ooforectomía se prepararon los geles y fueron aplicados al día siguiente, durante 10 días seguidos, con la ayuda de una pipeta modificada se introdujo 0.4 ml del gel respectivo 1 vez al día en los genitales.

5.7. Medición de concentración de PDGF-BB in vitro

Se incubó 1 ml del hidrogel de cada grupo tratado en placas. Se adiciono 400 uL de PBS con pH 7.4, luego se incubó en triplicado y se midió en diferentes tiempos 24h, 48h, 96h, 144h, 192h, 240h.

Tabla N°3 Distribución de grupos in vitro

Grupo 1	Gel con LP al 20%
Grupo 2	Gel con LP al 30%
Grupo 3	Gel con LP al 20% y UG 200ug/ml
Grupo 4	Gel con LP al 30% y UG 200ug/ml
Grupo 5	LP al 20%
Grupo 6	LP al 30%
Grupo 7	Gel
Grupo 8	Gel + UG 200 ug/ ml

Se usó el kit de ELISA Human PDGFBB modelo ELK marca ELK2289

1. Se extrae en la cabina de flujo laminar 200 uL del sobrenadante de cada placa y se guardó rotulando el grupo y tiempo de incubación.
2. Se preparó 7 pocillos para estándar y 1 pocillo blanco.

3. Se agregó 100 uL de las muestras en cada pocillo y se llevó a incubar 80 minutos a 37° C
4. Se aspiró el líquido de cada pocillo y se lavó con 200 uL de solución de lavado cada pocillo dejando reposar 1 minuto y luego se invierte la placa expulsando el líquido. Esto se repitió 2 veces más.
5. Se agregó 100 uL de solución de anticuerpos biotinilados a cada pocillo, se cubrió la placa y se incubó 50 minutos a 37°C.
6. Se repite el paso 4.
7. Se agregó 100 uL de la solución de estreptavidina - HRP a cada pocillo, se cubre y se incuba 50 minutos a 37°C.
8. Se repite el paso 4 pero esta vez se realizaron 5 lavados.
9. Se agregó 90 uL de la solución de sustrato TMB a cada pocillo, se cubre y se incuba 20 minutos a 37°C en la oscuridad.
10. Se agregó 50 uL del reactivo de parada a cada pocillo.
11. Se realizó la medición a 450 nm.

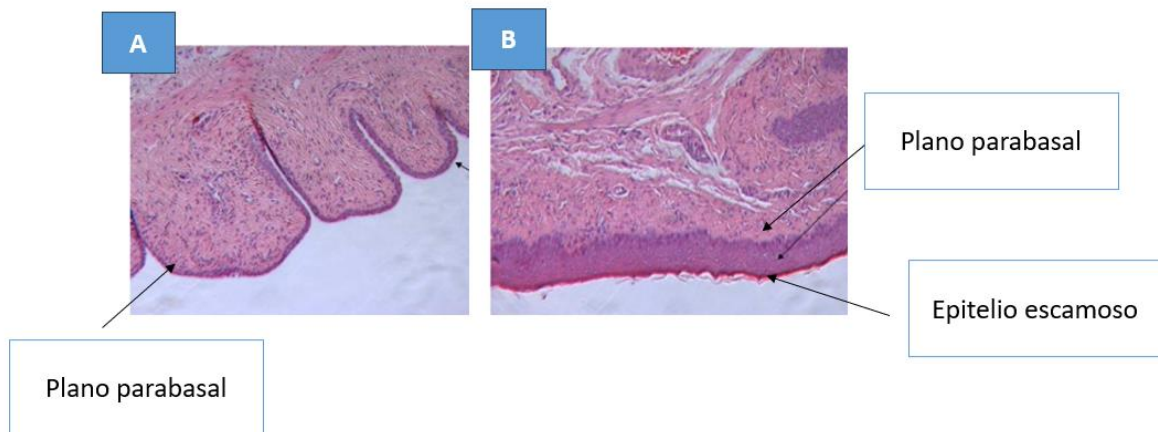
5.8. Estudio histológico del tejido vaginal post-tratamiento

Se tomaron los animales de cada grupo y se les practicó eutanasia con Halatal® (Pentobarbital sódico) en una proporción de dosis en 100mg/kg (Marshall et al., 1994). Para la eliminación de los residuos biológicos se siguió los lineamientos de descarte de disposición final por el bioterio de UPCH de acuerdo a sus normas. Se obtuvo la mayor proporción de la zona del canal vaginal para ser fijados en paraformaldehído al 4% en PBS (pH 7,4). Las muestras fueron llevadas a una batería de alcoholes para su correspondiente deshidratación y posterior formación de bloques de parafina lo cual permita la realización de cortes seriados con el micrótopo con un espesor de 4-6 µm. Estas finas láminas obtenidas fueron colocadas sobre láminas cubreobjetos para su rehidratación y tinción a través de la técnica con eosina y hematoxilina de acuerdo con los protocolos estándar. El procedimiento conlleva a manejo especializado, con personal entrenado y equipamiento único para el procesamiento de muestras de tejido que incluyen la inclusión, corte y coloración. Todo comparativamente a los grupos controles C0, C1 y C2.

Las muestras obtenidas al final del estudio fueron analizadas de acuerdo a sus características histológicas luego de visualizarlas en tinciones de H&E y tricrómico de Masson (este último para incrementar la precisión del depósito de colágeno) con

un aumento de x10 - x40 al microscopio de luz. Las principales medidas histológicas fueron número de capas epiteliales, leucorrea, la cantidad de infiltrados inflamatorios agudos y crónicos, la reepitelización.

Figura N°2. Comparación del epitelio de revestimiento de la vagina. A=Control negativo, B= epitelio restaurado. En A la ausencia del epitelio escamoso y solo el plano parabasal, en B hay presencia del epitelio escamoso (Vailati et al., 2013).



5.9. Estudio ELISA de la concentración de estradiol

Se extrajo sangre por la vía de la vena de la cola antes de la operación y antes de la eutanasia para medir el nivel de estradiol en las ratas. Se usó el kit de ELISA Rat E2 (Estradiol) de la marca ELK , modelo ELK8714.

1. Se preparó 7 pocillos para estándar y 1 pocillo para blanco.
2. Se agregó 50 uL de las muestras en cada pocillo y se adiciono 50 uL del conjugado biotinilado , cubrir la placa y se incubó 1 hora a 37°C.
3. Se aspiró cada pocillo y se agregó 200 uL de la solución de lavado dejándolo reposar 1 minuto y decantando, se repitió este paso 2 veces más.
4. Se agregó 100 uL de solución de estreptavidina - HRP a cada pocillo, se cubre la placa y se incubó 60 minutos a 37°C.
5. Repetir el paso 3, en este paso se hicieron 5 lavados.
6. Se agregó 90 uL de la solución de sustrato TMB en cada pocillo, se cubrió y se incubó 20 minutos a 37°C en la oscuridad.
7. Se agregó 50 uL del reactivo de parada en cada pocillo.
8. Se realizó la medición a 450 nm en el lector de microplacas.

5.10. Consideraciones éticas

Este proyecto pasó por la evaluación de

- El Comité Institucional de Ética en Investigación para Seres Humanos de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- El Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- El Comité Institucional de Ética En Investigación del HNCH

5.11. Plan de análisis

Se aplicaron las técnicas estadísticas correspondientes utilizando ANOVA de 1 factor de Kruskal-Wallis para muestras cualitativas y no paramétricas. Se usó tabla de contingencia para relacionar variables utilizando chi-cuadrado (X^2) para el nivel de significancia. Para los datos paramétricos se usó ANOVA de una vía. La evaluación de los resultados fue considerando un $p < 0,05$. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 25 y 29

VI. RESULTADOS

6.1 Lavado vaginal

6.1.1. Preoperatorio

Se realizaron lavados durante 5 días, 2 semanas antes de la operación, en los cuales se observaron las células queratinizadas, leucocitos y células nucleadas. De acuerdo a la cantidad de estas se colocó la fase en la que se encontraba cada rata. De acuerdo a la Tabla N°4 todas las ratas pasaron por la fase estro, indicando la función de los ovarios antes de la operación.

6.1.2. Postoperatorio

Después de 4 semanas se encontró en todos los grupos, excepto C0, una disminución de células escamosas y nucleadas indicando la ausencia del estrógeno.

Tabla N°4: Análisis de muestras citológicas preoperatorias

	1° DÍA	2° DÍA	3° DÍA	4° DÍA	5° DÍA
C0	Diestro	Diestro	Proestro	Estro	Metestro
C1	Diestro	Metestro	Estro	Metestro	nsición diestro-proestro
C2	Diestro	Proestro	sición proestro-estro	Estro	Metestro
LP20%	Proestro	Estro	Metestro	Diestro	nsición diestro-proestro
20%-UG	Estro	Metestro	Diestro	Diestro	nsición diestro-proestro
LP30%	Diestro	Diestro	Proestro	Estro	Metestro
30%-UG	Estro	Metestro	Diestro	nsición diestro-proestro	Metestro
UG	Diestro	Diestro	sición proestro-estro	Estro	Metestro

6.2. Medición de PDGF -BB

6.2.1 Curva de calibración

Al realizar la curva de calibración se obtuvo un R^2 cercano a 1 (Anexo N°2,3) validando los datos obtenidos.

6.2.2. Curvas de liberación de PDGF-BB

Como se puede observar en la figura N°3 los grupos que contienen lisado plaquetario en 20% o 30% tienen una liberación prolongada y luego de 144h comienza a decaer, pero aun manteniendo una liberación de PDGF -BB mayor a 3000 pg /ml. Pasó lo contrario con los grupos que solo contienen quitosano o quitosano más uña de gato donde no hay liberación de PDGF-BB.

Tabla N°5: Concentraciones de PDGF-BB de los diferentes grupos

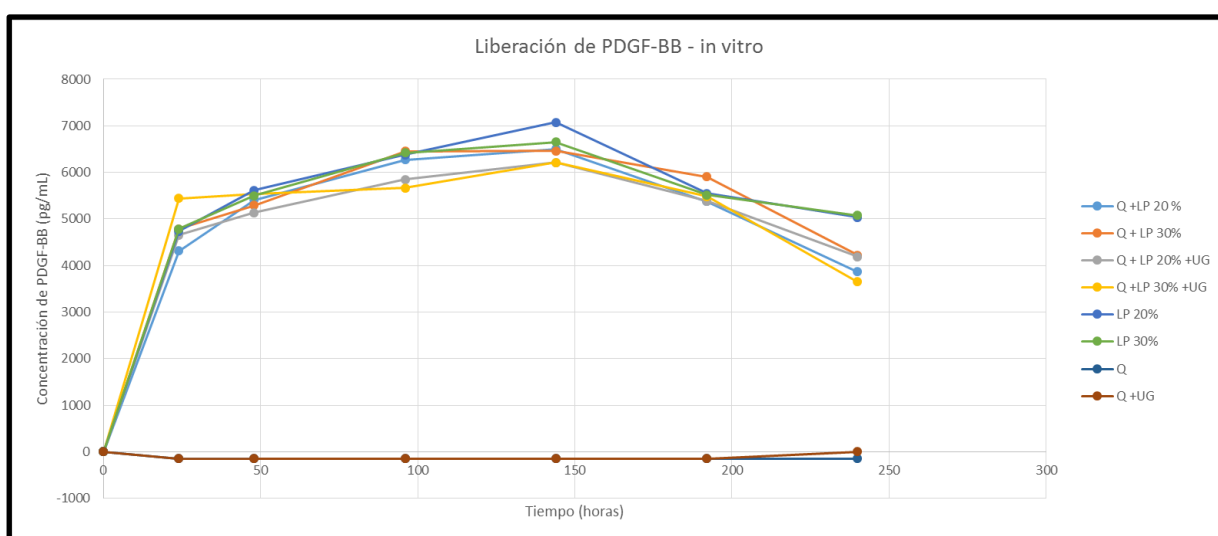
Tiempo(Hrs)	Q + LP 20%	Q + LP 30%	+ LP 20% + UG	+ LP 30% + UG	LP 20%	LP 30%	Q	Q + UG
24	4310,417	4785,625	4653,792	5444,583	4737,250	4783,875	-145,458	-146,708
48	5411,625	5295,417	5132,458	5532,583	5619,125	5499,583	-145,583	-146,375
96	6270,375	6450,708	5849,750	5661,542	6374,417	6415,750	-149,458	-147,208
144	6502,833	6465,133	6211,708	6209,750	7077,458	6651,625	-147,333	-147,917
192	5378,917	5909,583	5381,875	5479,792	5551,542	5519,667	-147,625	-146,417
240	3867,000	4224,000	4189,458	3650,542	5036,333	5079,125	-145,792	-146,250

Figura N°3. Liberación de PDGF - BB de los diferentes grupos.

6.3. Compuestos del extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa*

Los resultados dieron 5 polifenoles, 2 de ellos son dímeros de dos tipos diferentes, tanto de procianidinas, como de propelargonidinas, así como trímeros de procianidinas (Anexo N°4). El dímero que más sobresale es de procianidina con un 41.3% del total que es 89.15 mg/g (Tabla N°6) el cual es superior a la literatura (Navarro Hoyos et al., 2015).

Por el método Folin-Ciocalteu el total de fenoles fue de 359 mg GAE/g del extracto



seco encontrándose dentro del rango de muestras semejantes (Navarro-Hoyos et al. 2015). En cuanto, el análisis ORAC de la muestra (5.6 mmol TE/g extracto) se encuentra en el rango de la literatura para muestras similares (Navarro-Hoyos et al., 2017). Por último, el resultado de IC_{50} de 6.21 mg extracto/L, es menor que los reportados para extractos polifenólicos de hojas de *U. tomentosa* de 13.5 mg/L (Araya-Sibaja et al., 2022) (Tabla N°7).

Tabla N°6: Cuantificación de polifenoles en el extracto de corteza *U. tomentosa* (Resultado del análisis por HPLC por InnoBioTiQ).

Tipo de compuesto	[M-H] ⁻	mg/g extracto ¹
Monómeros	289	9.05
Flavalignanos	451	18.92
Dímeros de Properlagonidina	561	12.49
Dímeros de Procianidina	577	36.82
Trímeros de Procianidina	865	11.88
	Total	89.15

¹mg /gramo de extracto seco.

Tabla N°7: Resultados del análisis de fenoles totales y evaluación del potencial antioxidante del extracto de corteza de *U. tomentosa*. (Resultado del análisis por HPLC por InnoBioTiQ).

Fenoles totales (mg GAE/g extr)	ORAC (mmol TE/g extr)	DPPH (IC ₅₀ mg extr/L)
395.6 ± 13.2	5.16 ± 0.14	6.21 ± 0.09

6.4 Morfología externa de la vulva y útero

No hubo diferencia notable entre los diferentes grupos, todas presentan una vulva roja, sin humectación y el orificio contraído, solo dilatado el C0 en su periodo de estro.

6.5 Medición de estradiol

6.5.1 Curva de calibración

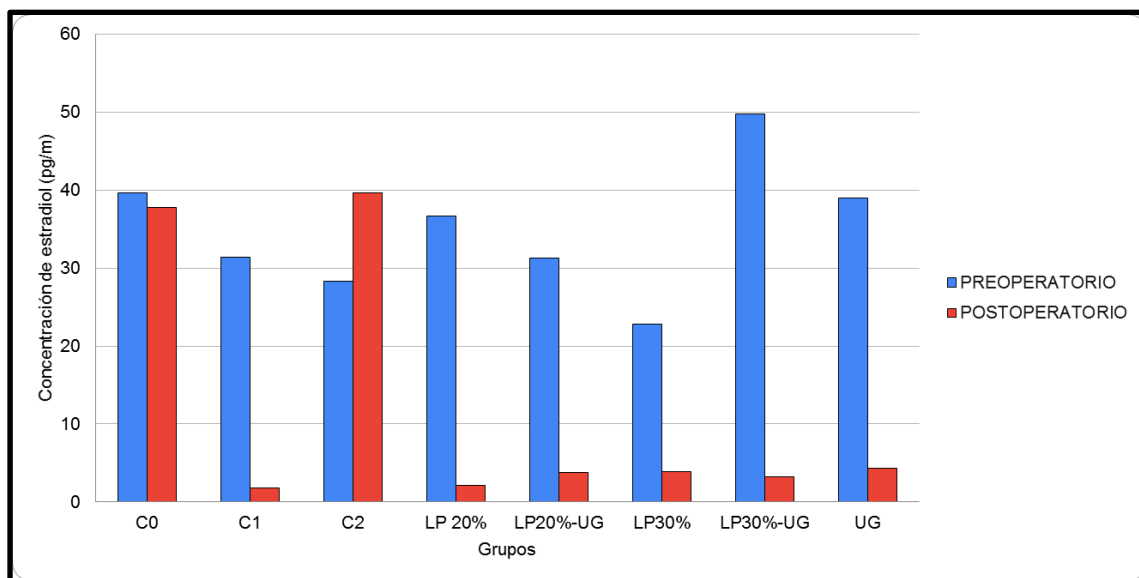
Los datos obtenidos en la absorbancia permitió realizar una ecuación polinómica obteniendo un R² cercano a 1 (Anexo 5 y 6) dando valor a los resultados obtenidos.

6.5.2 Concentración de estradiol preoperatorio y posoperatorio.

Antes de la operación en todos los grupos el nivel de estradiol en su sangre periférica se encuentra desde 22 pg/ml hasta 49 pg/ml indicando que todos los grupos tienen un ciclo estral normal. Luego de operarlas las

concentraciones decaen excepto el C0, ya que no fueron ovariectomizados y el C2 quienes recibieron estradiol tóxico (Figura N°4).

Figura N°4: Concentraciones de estradiol antes y después de la ovariectomización. C0= Control sin operación, C2= Control con estrógeno, C1= Control



sin tratamiento

6.6. Análisis histológico

6.6.1. Inflamación vaginal

El grupo LP30%-UG tiene una diferencia significativa con el C0 y el C2 con un $p=0,003$ y $p= 0.005$ respectivamente (Tabla N°8). Según la Figura N°5 este grupo (LP30%-UG) tiene aproximadamente un 55% de animales con inflamación crónica. Los otros tratamientos no tienen una diferencia significativa con los controles.

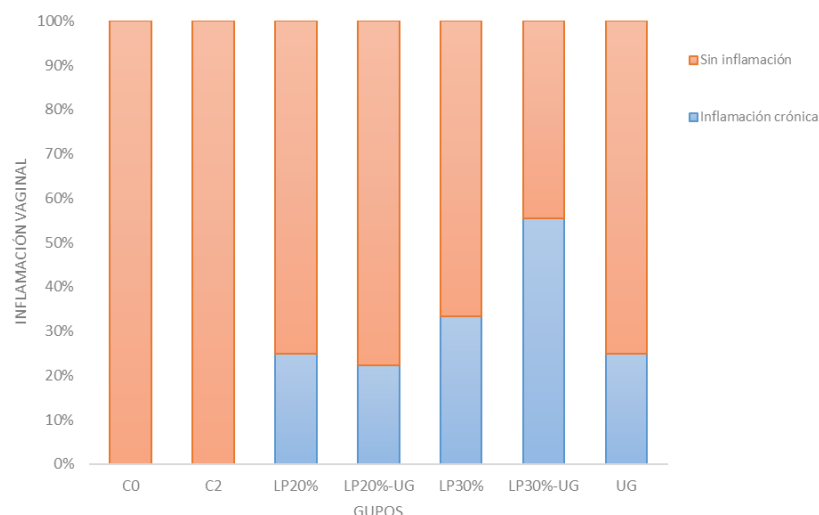


Figura N°5: Porcentajes de casos con inflamación crónica o sin inflamación vaginal. C0= Control sin operación, C2= Control con estrógeno.

Tabla N°8: Comparación con el C0 y C2 sobre la inflamación vaginal

	LP20%	LP20%-UG	LP30%	LP30%-UG	UG
C0	0.191	0.230	0.072	0.003*	0.191
C2	0.215	0.256	0.089	0.005*	0.215

C0= Control sin operación, C2= Control con estrógeno.

*= $p < 0.005$ son significativamente diferentes según Kruskal-Wallis

6.6.2. Inflamación nivel de útero

En ninguno de los grupos hubo presencia de inflamación en el útero..

6.6.3. Epitelio de revestimiento vaginal

La comparación del C0 con el LP30%-UG y el grupo con UG muestran que son diferentes significativamente en el revestimiento vaginal ($p=0.002$, $p=0.000$ respectivamente) (Tabla N°9), ya que en estos dos últimos tratamientos predominó la ausencia del epitelio escamoso al tener 66.6% el LP30%-UG y 87.5% el grupo de UG de casos con plano parabasal como revestimiento vaginal (Figura N°6) De igual forma sucede con el C2, que con el estrógeno recuperó el epitelio escamoso. El C1 al no ser tratado presenta el plano parabasal y es significativamente diferente al LP20%, LP20%-UG y

LP30% ($p=0.020, p=0.014, p=0.049$ respectivamente) teniendo la presencia del epitelio escamoso en el revestimiento vaginal (Tabla N°9).

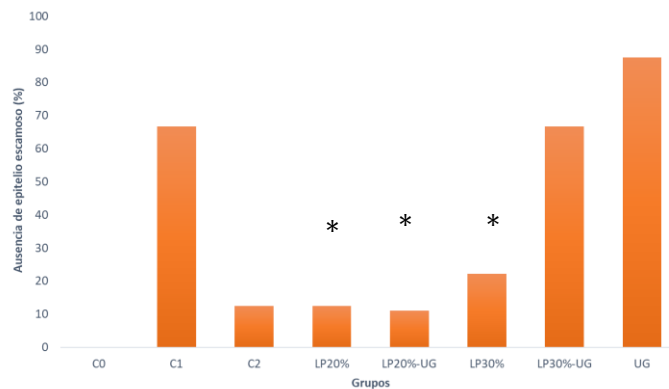


Figura N°6: Porcentaje de casos con ausencia del epitelio escamoso. C0= Control sin operación, C2= Control con estrógeno, C1= Control sin tratamiento (*= $p < 0.005$ son significativamente diferentes con respecto a C1)

Tabla N°9: Comparación con los controles respecto al epitelio de revestimiento en la vagina

	LP20%	LP20%-UG	LP30%	LP30%-UG	UG
C0	0.581	0.613	0.312	0.002*	0.000*
C2	1.000	0.952	0.676	0.020*	0.002*
C1	0.020*	0.014*	0.049*	1.000	0.370

0= Control sin operación, C2= Control con estrógeno, C1= Control sin tratamiento.
 *= $p < 0.005$ son significativamente diferentes según Kruskal-Wallis

6.6.4. Número de capas del revestimiento vaginal.

El C0 y C2 tienen una mediana de 11 a 12 capas de revestimiento epitelial con un rango de 9 a 14 capas, también se observa que tienen una simetría ya que contiene 50% en cada nivel. El LP20% tiene una mediana de 8 a 9 capas y un rango de 3 a 14 capas siendo el grupo más disperso. El LP20%-UG y LP30% tienen una mediana de 9 a 10 capas, difiriendo en que el primer grupo se encuentra más concentrado con excepción de 2 casos y el grupo LP30% tiene 75% de los casos con 5 a 10 capas y el 25% restante de 10 a 12 capas. El tratamiento de LP30%-UG tiene el 75% con 3 a 8 capas y el 25% de 8 a 10 capas. Y la UG y el C1 tienen una mediana de 5 a 6 capas, siendo el

tratamiento con UG más concentrado que el C1 (Figura 7). El grupo de UG tiene una disminución significativa del número de capas del revestimiento vaginal en comparación con el C0 y el C2 ($p=0.003, p=0.001$ respectivamente), este último también presentó una diferencia significativa de capas comparado con el LP30%-UG ($p=0.047$). Y los grupos LP20%, LP20%-UG y LP30% tienen un aumento significativo de capas contra el C1 ($p=0.016, p=0.027, p=0.027$) (Tabla N°10).

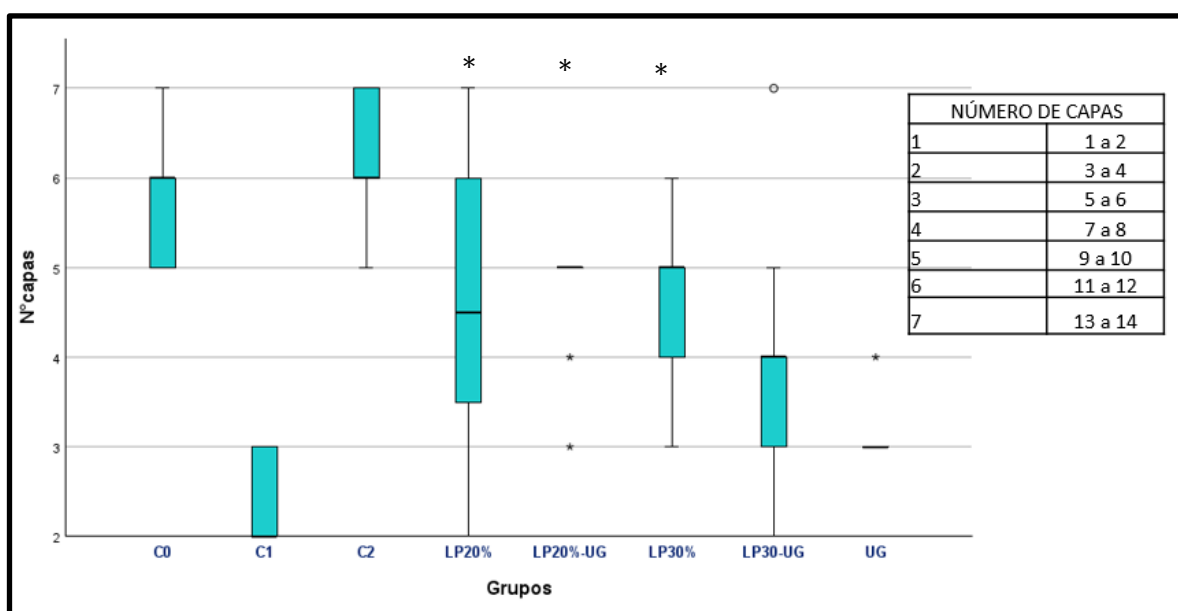


Figura N°7: Número de capas del epitelio de revestimiento vaginal. C0= Control sin operación, C2= Control con estrógeno, C1= Control sin tratamiento (*= $p < 0.005$ son significativamente diferentes con respecto a C1)

Tabla N°10: Comparación con los controles por número de capas.

	LP20%	LP20%-UG	LP30%	LP30%-UG	UG
C0	1.000	1.000	1.000	0.189	0.003*
C2	1.000	0.886	0.886	0.047*	0.001*
C1	0.016*	0.027*	0.027*	0.708	1.000

C0= Control sin operación, C2= Control con estrógeno, C1= Control sin tratamiento.

*= $p < 0.005$ son significativamente diferentes según Kruskal-Wallis

6.6.5. Relación de variables histológicas

6.6.5.1. Relación de la inflamación vaginal y del epitelio de revestimiento.

En cuanto a la tabla de contingencia nos indica que el 71.4% del total presenta el epitelio escamoso y que a su vez no tuvieron inflamación vaginal y su residuo corregido al ser mayor de 1.96 indica que esta relación tiene una significancia (Tabla N°11) siendo mejor visto en la Figura N°8 donde hay una diferencia significativa en el número de ratas que no presentan inflamación al tener el epitelio escamoso. Entonces se observa que hay una relación significativa entre la presencia de epitelio escamoso y la ausencia de inflamación ($p=0.013$) (Tabla N°12) y con el odd ration se observa que los que no tuvieron inflamación tienen 4.5 veces más probabilidad de que tengan epitelio escamosos en el revestimiento vaginal (Tabla 13).

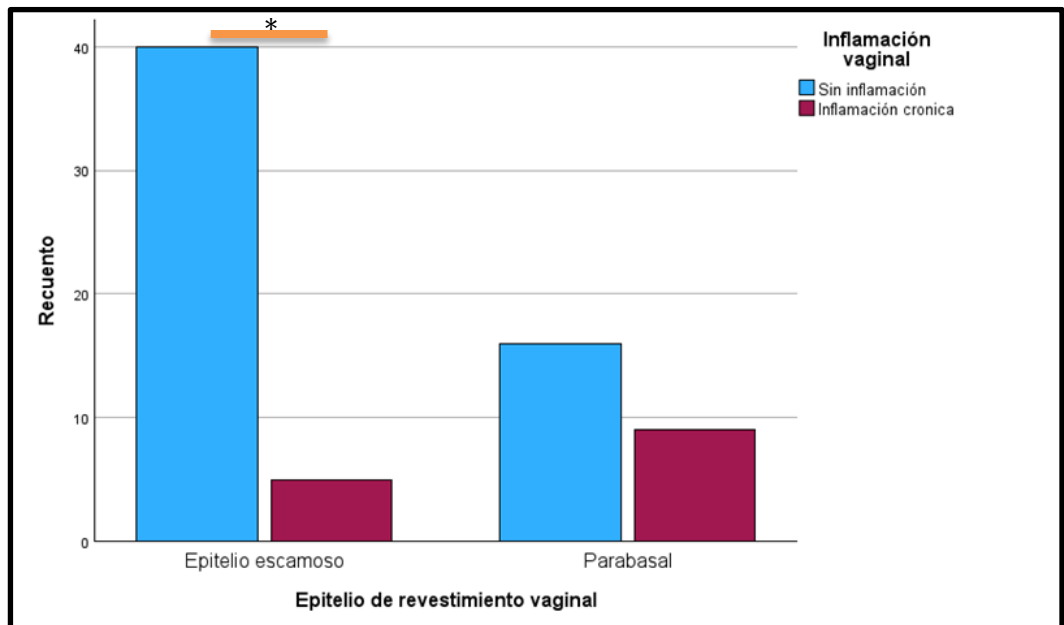


Figura N°8: Relación entre Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal. *=
 $p<0.005$

Tabla N°11: Tabla de contingencia de Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal

Tabla cruzada					
			Infla.vag		
			Sin inflamación	Inflamación crónica	Total
Epi.vag	Epitelio escamoso	% dentro de Infla.vag	71.4%	35.7%	64.3%
		Residuo corregido	2.5	-2.5	
	Parabasal	% dentro de Infla.vag	28.6%	64.3%	35.7%
		Residuo corregido	-2.5	2.5	
Total		% dentro de Infla.vag	100.0%	100.0%	100.0%

$|Residuo\ corregido| > 1.96$, es significativo

Tabla N°12: Chi- cuadrado de Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6.222 ^a	1	.013		
Corrección de continuidad ^b	4.764	1	.029		
Razón de verosimilitud	5.991	1	.014		
Prueba exacta de Fisher				.026	.016

En rojo $p < 0.05$, significativo por chi-cuadrado

Tabla N°13: Odds ratio (OR) de Epitelio de revestimiento x Inflamación vaginal

Estimación de riesgo

	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Razón de ventajas para Epi.vag (Epitelio escamoso / Parabasal)	4.500	1.306	15.510

Valor > 1 = mayor probabilidad de ocurrir la condición

6.6.5.2. Relación del número de capas y la inflamación vaginal

En cuanto a la relación del número de capas del epitelio de revestimiento con la ausencia de inflamación tiene una relación significativa $p < 0.001$ (Tabla N°15) y en el cuadro de contingencia se observa que al tener igual o menor que 7 capas hay una relación inversa donde inflamación crónica está más presente, siendo el más significativo el residuo mayor a 1.96 (residuo corregido= 4.6%) de 7-8 capas con la presencia de inflamación crónica (Tabla N°14). La Figura 9 indica que a

partir de 9 capas para arriba no presentan inflamación y la relación de estas variables es corroborada por el valor de V de cramer que es significativa ($p=0.001$) (Tabla N°16).

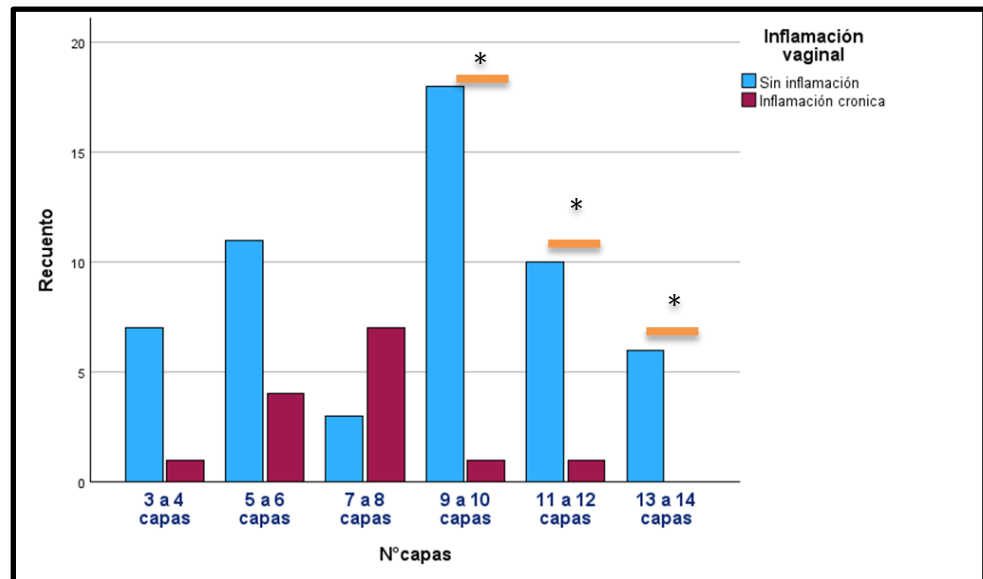


Figura N°9 Relación entre N° de capas x Inflamación vaginal. *= $p<0.005$

Tabla N°14: Tabla de contingencia del N° de capas x Inflamación vaginal

Tabla cruzada					
			Infla.vag		Total
			Sin inflamación	Inflamación crónica	
N°capas	3 a 4 capas	% dentro de Infla.vag	12.7%	7.1%	11.6%
		Residuo corregido	.6	-.6	
	5 a 6 capas	% dentro de Infla.vag	20.0%	28.6%	21.7%
		Residuo corregido	-.7	.7	
	7 a 8 capas	% dentro de Infla.vag	5.5%	50.0%	14.5%
		Residuo corregido	-4.2	4.2	
	9 a 10 capas	% dentro de Infla.vag	32.7%	7.1%	27.5%
		Residuo corregido	1.9	-1.9	
	11 a 12 capas	% dentro de Infla.vag	18.2%	7.1%	15.9%
		Residuo corregido	1.0	-1.0	
	13 a 14 capas	% dentro de Infla.vag	10.9%	0.0%	8.7%
		Residuo corregido	1.3	-1.3	
Total		% dentro de Infla.vag	100.0%	100.0%	100.0%

|Residuo corregido|>1.96, es significativo

Tabla N°15: Chi- cuadrado de N° de capas x Inflamación vaginal

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	20.989 ^a	5	<.001
Razón de verosimilitud	19.426	5	.002
Asociación lineal por lineal	3.009	1	.083
N de casos válidos	69		

a. 7 casillas (58.3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1.22.

En rojo $p < 0.05$, significativo por chi-cuadrado

Tabla N°16: Prueba de V de Cramer de la relación entre N° de capas x Inflamación vaginal

Medidas simétricas			
		Valor	Significación aproximada
Nominal por Nominal	Phi	.552	<.001
	V de Cramer	.552	<.001
N de casos válidos		69	

En rojo $p < 0.05$, por V de Cramer, su valor va de 0 a 1, siendo más cercano al 1 indicando una asociación fuerte entre las variables

6.6.5.3. Relación de número de capas con el epitelio de revestimiento vaginal

En la tabla de contingencia se observa que cuando tiene menos capas de revestimiento hasta 7 a 8 predomina la ausencia del epitelio escamoso (presencia del plano parabasal) y hay un 40.9% que tienen 9 a 10 capas y a la vez presenta el epitelio escamoso en el revestimiento y un 25% tienen 11 a 12 capas y el epitelio escamoso (Tabla N°17) esta relación es significativa ($p=0.001$) por la prueba de chi-cuadrado(Tabla N°18) y por el valor de V de cramer que es cercano a 1 (0.786) (Tabla N°19).Y en la figura N°10 el plano parabasal se encuentra en capas menores a 8 pero al incrementarse las capas solo hay presencia del epitelio escamoso.

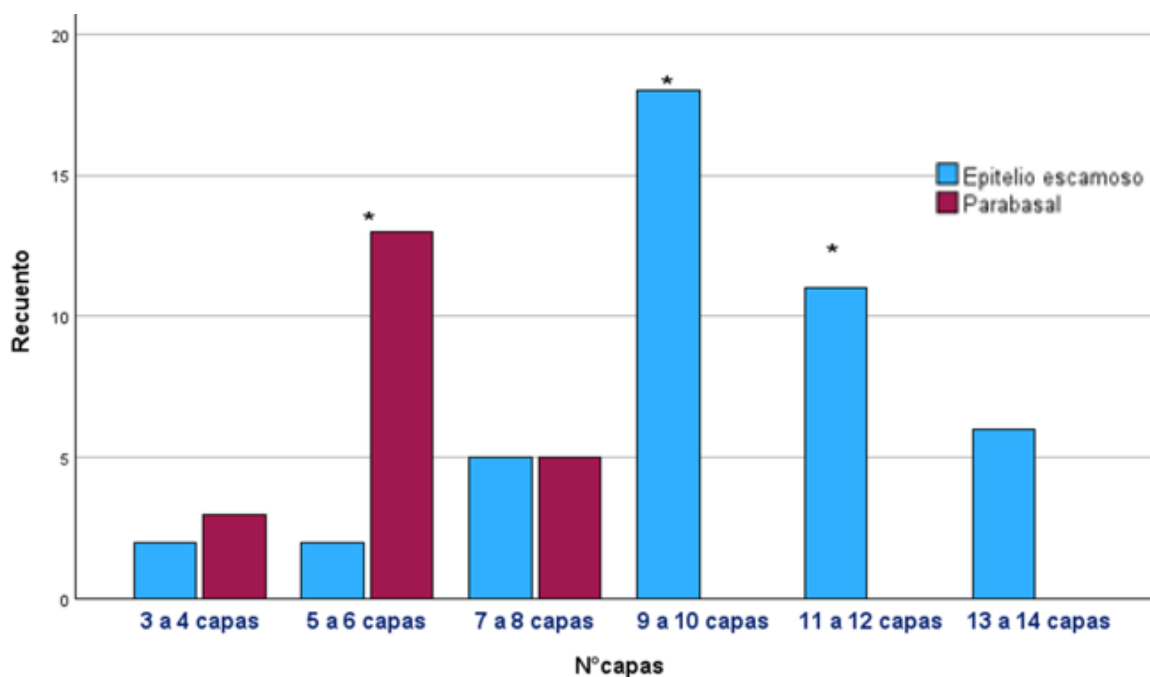


Figura N°10: Relación entre N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal. *= $p < 0.005$

Tabla N°17: Tabla de contingencia del N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal

Tabla cruzada N°capas*Epi.revest.vag					
			Epitelio de revestimiento vaginal		
			Plano no queratinizado	Parabasal	Total
N°capas	3 a 4 capas	% dentro de Epi.vag	4.5%	14.3%	7.7%
		Residuo corregido	-1.4	1.4	
	5 a 6 capas	% dentro de Epi.vag	4.5%	61.9%	23.1%
		Residuo corregido	-5.1	5.1	
	7 a 8 capas	% dentro de Epi.vag	11.4%	23.8%	15.4%
		Residuo corregido	-1.3	1.3	
	9 a 10 capas	% dentro de Epi.vag	40.9%	0.0%	27.7%
		Residuo corregido	3.4	-3.4	
	11 a 12 capas	% dentro de Epi.vag	25.0%	0.0%	16.9%
		Residuo corregido	2.5	-2.5	
	13 a 14 capas	% dentro de Epi.vag	13.6%	0.0%	9.2%
		Residuo corregido	1.8	-1.8	
Total		% dentro de Epi.vag	100.0%	100.0%	100.0%

|Residuo corregido| > 1.96, es significativo

Tabla N°18: Chi- cuadrado de N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	40.156 ^a	5	<.001
Razón de verosimilitud	49.418	5	<.001
Asociación lineal por lineal	29.506	1	<.001
N de casos válidos	65		

a. 7 casillas (58.3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1.62.

En rojo $p < 0.05$, significativo por chi-cuadrado

Tabla N°19: Prueba de V de Cramer de la relación entre N° de capas x Epitelio de revestimiento vaginal

Medidas simétricas			
		Valor	Significación aproximada
Nominal por Nominal	Phi	.786	<.001
	V de Cramer	.786	<.001
N de casos válidos		65	

En rojo $p < 0.05$, por V de Cramer, su valor va de 0 a 1, siendo más cercano al 1 indicando una asociación fuerte entre las variables

6.6.5.3. Relación epitelio de revestimiento vaginal con el número de capas y la inflamación vaginal.

Según la tabla de contingencia (Tabla N° 20) no presentaron inflamación los ejemplares que tienen el epitelio escamoso y a su vez estos tienen más de 9 capas de revestimiento, teniendo un 45% de 9 a 10 capas con presencia del epitelio escamoso y sin inflamación vaginal teniendo una diferencia significativa al no encontrar ni un ejemplar con el plano parabasal que tenga más de 9 capas y que no tenga inflamación (Tabla N°20)(Figura N°11). Con un $p = < 0.001$ por chi-cuadrado nos dice que si existe una relación de que no haya inflamación y que esté presente el epitelio escamoso y con más de 9 capas (Tablas N°21) y el valor (0.811) de V de cramer es cercano a 1

indicando la fuerte relación entre estas variables que es significativa ($p < 0.001$) (Tabla N°22).

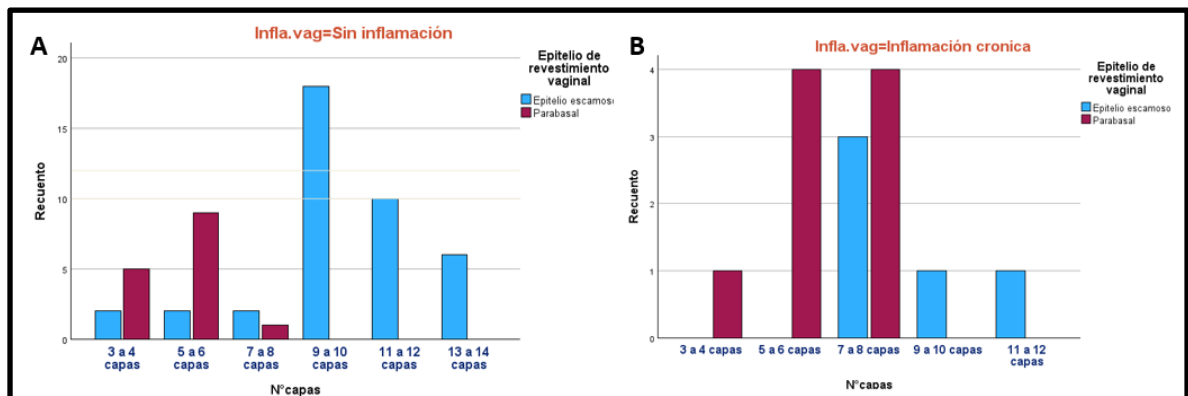


Figura N°11: Relación entre Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x Inflamación vaginal. A: sin inflamación; B: inflamación crónica

Tabla N°20: Tabla de contingencia del Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x inflamación vaginal

Tabla cruzada N°capas*Epi.vag*Infla.vag

				Epitelio de revestimiento vaginal		
Infla.vag				Epitelio escamoso	Parabasal	Total
Sin inflamación	N°capas	3 a 4 capas	% dentro de Epi.vag	5.0%	33.3%	12.7%
			Residuo corregido	-2.8	2.8	
		5 a 6 capas	% dentro de Epi.vag	5.0%	60.0%	20.0%
			Residuo corregido	-4.5	4.5	
		7 a 8 capas	% dentro de Epi.vag	5.0%	6.7%	5.5%
			Residuo corregido	-.2	.2	
		9 a 10 capas	% dentro de Epi.vag	45.0%	0.0%	32.7%
			Residuo corregido	3.2	-3.2	
		11 a 12 capas	% dentro de Epi.vag	25.0%	0.0%	18.2%
			Residuo corregido	2.1	-2.1	
		13 a 14 capas	% dentro de Epi.vag	15.0%	0.0%	10.9%
			Residuo corregido	1.6	-1.6	
	Total		% dentro de Epi.vag	100.0%	100.0%	100.0%
Inflamación crónica	N°capas	3 a 4 capas	% dentro de Epi.vag	0.0%	11.1%	7.1%
			Residuo corregido	-.8	.8	
		5 a 6 capas	% dentro de Epi.vag	0.0%	44.4%	28.6%
			Residuo corregido	-1.8	1.8	
		7 a 8 capas	% dentro de Epi.vag	60.0%	44.4%	50.0%
			Residuo corregido	.6	-.6	
		9 a 10 capas	% dentro de Epi.vag	20.0%	0.0%	7.1%
			Residuo corregido	1.4	-1.4	
		11 a 12 capas	% dentro de Epi.vag	20.0%	0.0%	7.1%
			Residuo corregido	1.4	-1.4	
	Total		% dentro de Epi.vag	100.0%	100.0%	100.0%

$|Residuo\ corregido| > 1.96$, es significativo

Tabla N°21: Chi- cuadrado de Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x Inflamación vaginal

Pruebas de chi-cuadrado

Infla.vag		Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Sin inflamación	Chi-cuadrado de Pearson	36.187 ^b	5	<.001
	Razón de verosimilitud	41.829	5	<.001
	Asociación lineal por lineal	27.942	1	<.001
	N de casos válidos	55		
Inflamación crónica	Chi-cuadrado de Pearson	6.533 ^c	4	.163
	Razón de verosimilitud	8.688	4	.069
	Asociación lineal por lineal	5.425	1	.020
	N de casos válidos	14		
Total	Chi-cuadrado de Pearson	43.726 ^a	5	<.001
	Razón de verosimilitud	54.520	5	<.001
	Asociación lineal por lineal	34.349	1	<.001
	N de casos válidos	69		

En rojo $p < 0.05$, significativo por chi-cuadrado

Tabla N°22: Prueba de V de Cramer de la relación entre Epitelio de revestimiento vaginal x N° de capas x Inflamación vaginal

Medidas simétricas

Infla.vag			Valor	Significación aproximada
Sin inflamación	Nominal por Nominal	Phi	.811	<.001
		V de Cramer	.811	<.001
	N de casos válidos		55	
Inflamación crónica	Nominal por Nominal	Phi	.683	.163
		V de Cramer	.683	.163
	N de casos válidos		14	
Total	Nominal por Nominal	Phi	.796	<.001
		V de Cramer	.796	<.001
	N de casos válidos		69	

En rojo $p < 0.05$, por V de Cramer, su valor va de 0 a 1, siendo más cercano al 1 indicando una asociación fuerte entre las variables.

6.7. Análisis de pesos

6.7.1. Peso vaginal

. En cuanto a su comparación con el C0, se observa que el LP 20% tiene un menor peso vaginal significativo ($p=0.038$) y de igual forma con el grupo LP20%-UG también se encuentra en menor peso vaginal ($p=0.020$), el resto de grupos no presentan diferencia

significativa con el Peso vaginal de C0. (Figura N°12). Se realizó la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov para los estudios correspondientes, en el peso vaginal se tiene $p=0.068$ siendo un valor paramétrico (Anexo N°11). Para medir la homogeneidad se usó el Estadístico de Levene donde la significancia valía igual a 0.018 (Anexo N°12) por lo que sus varianzas son diferentes. Se usó la prueba de Welch y tiene una diferencia significativa en sus medias ($p=0.013$) (Tabla N°24)

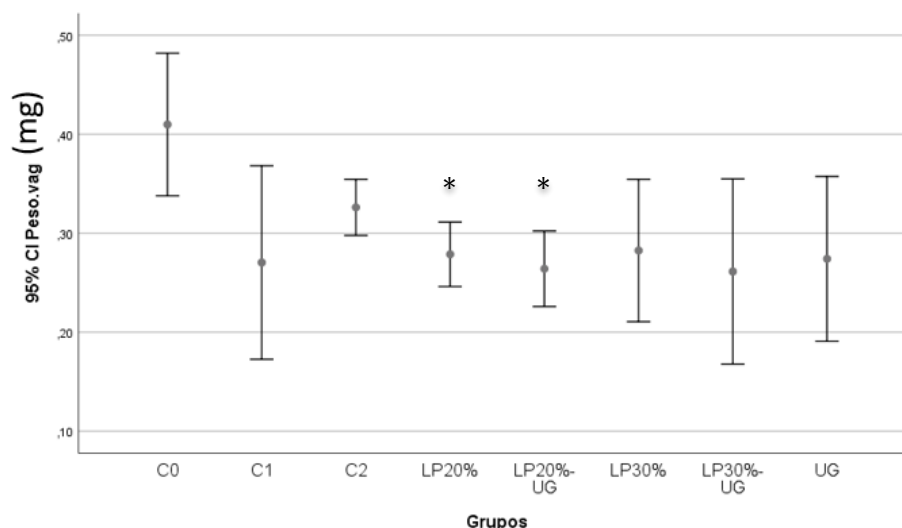


Figura N°12: Diagrama de Peso vaginal. C0: Control sin cirugía ; C1: Control sin tratamiento y C2: Control con estrógeno (*= $p < 0.005$ son significativamente diferentes con respecto a C0)

Tabla N°23: Prueba de Welch para el Peso Vaginal

Pruebas robustas de igualdad de medias				
Peso.vag				
	Estadístico ^a	gl1	gl2	Sig.
Welch	3,216	7	26,234	,013

a. F distribuida de forma asintótica

Sig= $p < 0.05$, significativo por prueba de Welch

Tabla N°24 : Comparación de las medias del C0 con los otros grupos del Peso vaginal.

p<0.05, significativo por chi-cuadrado

	C1		C2		LP20%		LP20%-UG		LP30%		LP30%-UG		UG	
	DME± SE	Sig	DME± SE	Sig	DME± SE	Sig	DME± SE	Sig	DME± SE	Sig	DME± SE	Sig	DME± SE	Sig
C0	0.14 ± 0.053	0.217	0.08 ± 0.34	0.299	0.13 ± 0.035	0.038*	0.15 ± 0.03	0.020*	0.12 ± 0.044	0.144	0.14 ± 0.05	0.143	0.135 ± 0.047	0.151

Sig: p<0.05, significativo , DME: diferencia de media estandarizada, SE: Error estándar, C0: sin inflamación; C2: inflamación crónica

6.7.2. Peso útero/ Peso corporal

En la Figura N°13 el C0 tiene una mediana de 0.0022×10^{-3} y una mayor dispersión que los otros grupos, el LP20% su mediana es de 0.0004×10^{-3} y una dispersión de 0 a 0.0025, el LP20%-UG presentan una mediana de 0.00045×10^{-3} . (Figura N°13). El C0 al compararse con el C1 , LP20%-UG, LP30% y UG tienen una disminución de esta relación P. útero/ P.corporal (p=0.030, p=0.005, p=0.026, p=0.010 respectivamente) (Tabla N°25)

Tabla N°25 : Comparación de las medias en parejas.

	C1	C2	LP20%	LP20%-UG	LP30%	LP30%-UG	UG
C0	0.030*	1.000	0.219	0.005*	0.026*	1.000	0.010*

Sig: * = p<0.05, significativo , DME: diferencia de media estandarizada, SE: Error estándar, C0: sin inflamación; C2: inflamación crónica Realizado por kruskall-wallis

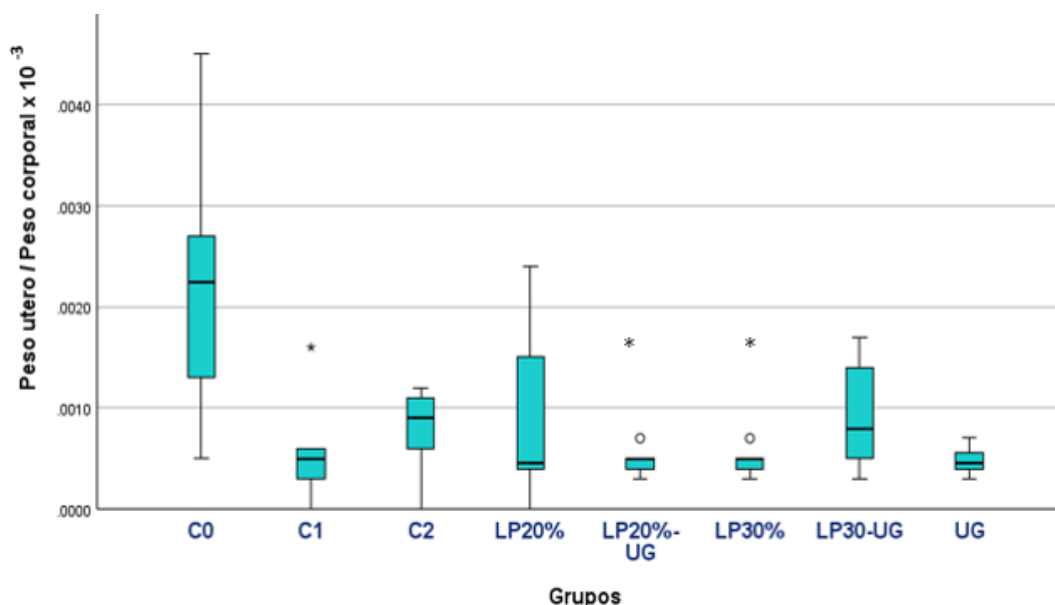


Figura N°13: Comparación de la relación P.útero/P.corporal . C0: Control sin cirugía ; C1: Control sin tratamiento y C2: Control con estrógeno. (*= $p < 0.005$ son significativamente diferentes con respecto a C0)

6.7.3. Peso vaginal / Peso corporal

En comparación con el C0 se tiene una disminución significativa en el C1, LP20%, LP30% y LP 30%-UG ($p=0.004$, $p=0.021$, $p=0.045$, $p=0.008$ respectivamente). (Tabla N°26)

Tabla N°26 : Comparación de las medias en parejas.

	C1	C2	LP20%	LP20%-UG	LP30%	LP30%-UG	UG
C0	0.004*	1.000	0.021*	0.058	0.045*	0.008*	0.052

Sig: * = $p < 0.05$, significativo , DME: diferencia de media estandarizada, SE: Error estándar, C0: sin inflamación; C2: inflamación crónica Realizado por kruskall-wallis

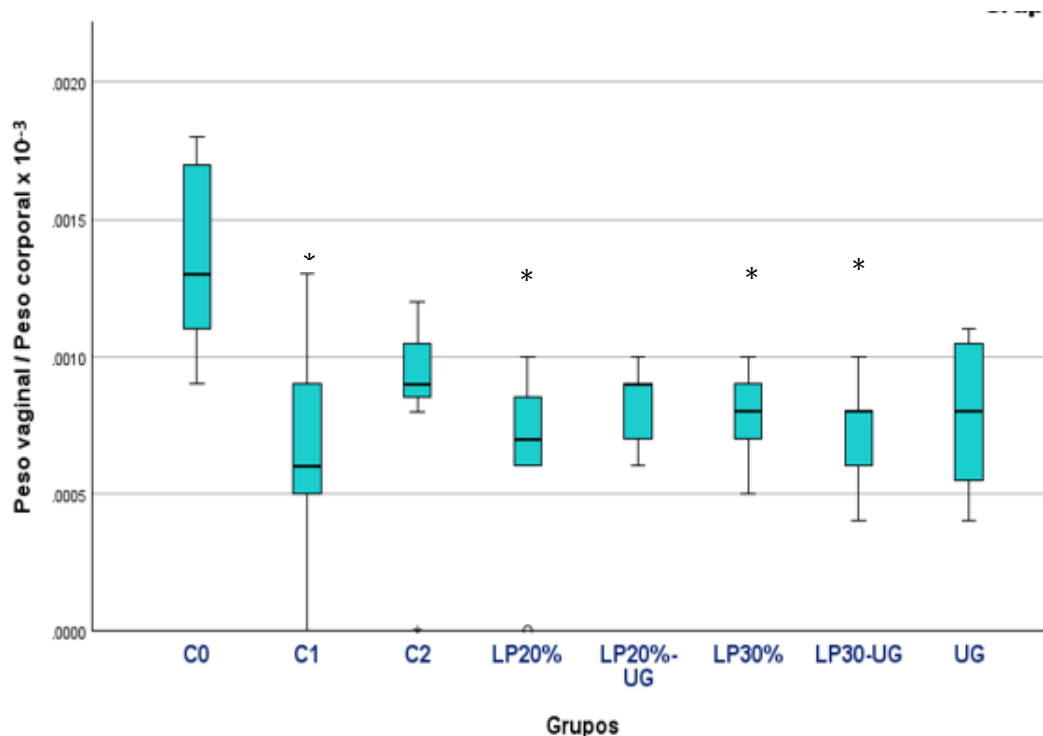


Figura N°14: Diagrama de Peso vaginal/ Peso corporal . C0: Control sin cirugía ; C1: Control sin tratamiento y C2: Control con estrógeno. (*= $p < 0.005$ son significativamente diferentes con respecto a C0)

VII. DISCUSIÓN

El ciclo estral de las ratas es comprobado con la citología vaginal identificando las células y proporciones. Luego de la cirugía el escaso número de células escamosas encontradas indicaron la ausencia del estro (Sato et al., 1997) por el extirpamiento de los ovarios y no tener una producción del estrógeno, que es comprobado por el KIT de elisa ELK8714 al comparar la disminución significativa del estradiol después de ser operadas todos los grupos excepto el C0. Con esta ausencia de estradiol se obtiene un modelo postmenopáusico en ratas (Yang et al., 2022).

En el presente estudio se buscó comparar diferentes tratamientos que ayuden con la reparación e inflamación provocado por la atrofia vaginal sin presencia de hormonas, con productos naturales. Los resultados a nivel macroscópico no tuvieron diferencia significativa de la vulva al ser todas de color rojas y teniendo también el útero delgado de los diferentes tratamientos comparados con los controles similar a lo encontrado en el estudio de Vailati (Vailati et al., 2013).

En los resultados histológicos de la inflamación vaginal, se observa que el LP30% muestra una tendencia no estadísticamente significativa a mostrar mayor inflamación. Podría postularse que las altas concentraciones de LP pueden inducir un entorno inflamatorio, ya que al contener una alta concentración de factores de crecimiento inducirían la producción de citocinas proinflamatorias y formación de tejido de granulación.(Vailati et al., 2013) El grupo tratado con UG no presenta inflamación vaginal significativa comparado con los controles, su composición principal de este extracto, los fenoles, inhiben mediadores y vías proinflamatorias. Sin embargo, al unirse con el LP al 30% este mecanismo anti-inflamatorio podría verse afectado.

En cuanto al epitelio de revestimiento de la vagina el grupo tratado con UG tienen una disminución significativa del epitelio escamoso teniendo mayor presencia del plano parabasal. Los tratamientos LP20% , LP 20% -UG y LP30% tienen la presencia del epitelio escamoso por lo que se asemejan a la reparación tisular del epitelio escamoso al grupo tratado con hormonas esteroideas y a otros estudios que trabajan con dehidroepiandrosterona , quien tiene una actividad estrogénica y androgénica que también revierten la pérdida del epitelio escamoso (Labrie et al., 2017). El número de capas del LP20% presento una reparación que de 3 a 6 capas del epitelio de revestimiento, los otros tratamientos que tienen un número mayor de capas del epitelio de revestimiento son el LP 30% y el LP20%-UG que tiene entre 9 a 10 capas, teniendo un resultado similar a los controles, sin el requerimiento de hormonas esteroideas, quienes revierten el adelgazamiento del epitelio de revestimiento por la atrofia vaginal (Sourla et al., 1998). Lo contrario pasa con la UG que tiene de 5 a 6 capas de revestimiento y el LP 30% -UG tiene un rango de 3 a 10 capas, siendo un grupo muy disperso.

La relación de la predominancia del epitelio de revestimiento sobre la inflamación se observó que el plano escamoso tiene 4.5 veces mayor probabilidad a no tener inflamación que los que tienen el plano parabasal, también el número de capas está relacionado de manera inversa con la presencia de la inflamación crónica y de manera directa con la presencia del epitelio escamoso. Por lo que sin la inflamación es más probable que haya una reparación del epitelio escamoso y se tendrá un número mayor de capas. Teniendo los grupos LP20%, LP20%-UG y el LP30% una mayor reparación del epitelio escamoso y un número mayor de capas del epitelio de revestimiento y sin inflamación vaginal mostrando resultados similares al C0 y C2. Caso contrario con el LP30%-UG que tiene una inflamación significativa y

menor número del epitelio de revestimiento y el grupo tratado con UG no tuvo una reparación tisular del epitelio escamoso contando solo con el parabasal por lo que también tiene una significativa menor número de capas. Pese a que el grupo LP30%-UG usó LP no hubo reparación ya que este grupo presentaba inflamación crónica perjudicando la reparación del epitelio escamoso, alterando la reorganización del colágeno, también promoviendo la fibrosis y así alterando la regeneración tisular (Eming et al., 2007; Zhao et al., 2016)

En cuanto a los pesos el C1, con ovariectomía sin tratamiento tuvo significativamente un menor peso de útero que el C0, debido a la falta de estrógeno presentó una atrofia uterina, con la disminución del grosor del endometrio y miometrio (Sourla et al., 1998) al igual que los grupos tratados con LP30%, UG y LP 20%-UG. A diferencia de los tratamientos de LP20% y LP 30% -UG no tuvieron diferencia significativa con el C0 indicando que estos tratamientos ayudaron con la conservación del grosor del endometrio y miometrio, a su vez no tuvieron diferencia significativa con el tratamiento con estradiol al 0.005% (C2) quien por tener una cantidad mínima de estradiol cuenta con una menor actividad uterotrófica, donde no hay aumento en el grosor del miometrio (López-Belmonte et al., 2012).

VIII. CONCLUSIONES

- Los tratamientos con LP al 20% con o sin UG dieron un resultado favorable similar al grupo tratado con estradiol y sin efectos colaterales.
- El tratamiento con LP al 30% generó una inflamación que fue significativa al combinarse con UG, obstaculizando su propiedad antiinflamatoria.
- El grupo con LP al 30% con UG no tuvo una reparación tisular significativa debido a que la inflamación crónica frenó esta regeneración.
- Hay una relación entre la reparación del epitelio escamoso con la ausencia de inflamación y el incremento en el número de capas de revestimiento a nivel vaginal.
- Los grupos con LP al 20% con o sin UG y con LP al 30% dieron resultados similares a tratamientos con hormonas, sin algún efecto colateral como la uterotrofia, ya que ni un grupo incrementó su peso uterino comparado con el control sin operar.
-

IX. RECOMENDACIONES

- En otros estudios deben implementarse mediciones de citoquinas pro- y anti-inflamatorias y hormonas a nivel sérico y del tejido local.
- En otros estudios enfocar las mediciones a nivel de la atrofia del útero.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Zabermawi, N. M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Abd El-Hakim, Y. M., & Al-Sagheer, A. A. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2726-2744. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153>
- Abramov, Y., Webb, A. R., Botros, S. M., Goldberg, R. P., Ameer, G. A., & Sand, P. K. (2011). Effect of bilateral oophorectomy on wound healing of the rabbit vagina. *Fertility and Sterility*, 95(4), 1467-1470. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.08.001>
- Abu-Taha, M., Rius, C., Hermenegildo, C., Noguera, I., Cerda-Nicolas, J.-M., Issekutz, A. C., Jose, P. J., Cortijo, J., Morcillo, E. J., & Sanz, M.-J. (2009). Menopause and ovariectomy cause a low grade of systemic inflammation that may be prevented by chronic treatment with low doses of estrogen or losartan. *Journal of Immunology*

(Baltimore, Md.: 1950), 183(2), 1393-1402.

<https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803157>

Aguilar, J. L., Rojas, P., Marcelo, A., Plaza, A., Bauer, R., Reininger, E., Merfort, I.

(2002). Anti-inflammatory activity of two different extracts of *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2), 271-276.

[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00093-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00093-4)

Ağcam, E., Akyildiz, A., & Dündar, B. (2018). *Thermal Pasteurization and Microbial*

Inactivation of Fruit Juices. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00017-5>

Aquino, R., De Simone, F., Pizza, C., Conti, C., & Stein, M. L. (1989). Plant metabolites.

Structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*. *Journal of Natural Products*, 52(4), 679-685.

<https://doi.org/10.1021/np50064a002>

Arado, G. M., Amatto, P. de P. G., Marins, M., Rizzi, E. S., França, S. de C., Coppede, J.

da S., Carmona, F., & Pereira, A. M. S. (2024). Anti-inflammatory and/or

immunomodulatory activities of *Uncaria tomentosa* (cat's claw) extracts: A systematic review and meta-analysis of in vivo studies. *Frontiers in Pharmacology*,

15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1378408>

Araya-Sibaja, A. M., Wilhelm-Romero, K., Vargas-Huertas, F., Quirós-Fallas, M. I.,

Alvarado-Corella, D., Mora-Román, J. J., Vega-Baudrit, J. R., Sánchez-Kopper, A.,

& Navarro-Hoyos, M. (2022). Hybrid Nanoparticles of Proanthocyanidins from

Uncaria tomentosa Leaves: QTOF-ESI MS Characterization, Antioxidant Activity and Immune Cellular Response. *Plants*, 11(13), Article 13.

<https://doi.org/10.3390/plants11131737>

Arenas, I. A., Armstrong, S. J., Xu, Y., & Davidge, S. T. (2005). Chronic tumor necrosis

factor-alpha inhibition enhances NO modulation of vascular function in estrogen-deficient rats. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 46(1), 76-81.

<https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000168925.98963.ef>

Avis, N. E., Crawford, S. L., Greendale, G., Bromberger, J. T., Everson-Rose, S. A., Gold, E. B., Hess, R., Joffe, H., Kravitz, H. M., Tepper, P. G., Thurston, R. C., & National (SWAN), for the S. of W. H. A. the. (2015). Duration of Menopausal Vasomotor Symptoms Over the Menopause Transition. *JAMA Internal Medicine*, 175(4), 531. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2014.8063>

Cabrel, S., Univeros, G., Aguilar, J.L. (2019). Influencia del pH en la liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) a partir de un hidrogel a base de β -quitosano. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(4), 440-451. <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v85i4.258>.

Cerón Tello, W. M. (2018). *Evaluación in vitro del potencial cicatrizante de heridas de un gel de fibrina rico en plaquetas y células madre mesenquimales de cordón umbilical*. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/7777>

Dawood, A. S., & Salem, H. A. (2018). Current clinical applications of platelet-rich plasma in various gynecological disorders: An appraisal of theory and practice. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 45(2), 67. <https://doi.org/10.5653/cerm.2018.45.2.67>

Debnath, T., Ghosh, S., Potlapuvu, U. S., Kona, L., Kamaraju, S. R., Sarkar, S., Gaddam, S., & Chelluri, L. K. (2015). Proliferation and Differentiation Potential of Human Adipose-Derived Stem Cells Grown on Chitosan Hydrogel. *PLOS ONE*, 10(3), e0120803. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120803>

Dreifuss, A. A., Bastos-Pereira, A. L., Ávila, T. V., Soley, B. da S., Rivero, A. J., Aguilar,

- J. L., & Acco, A. (2010). Antitumoral and antioxidant effects of a hydroalcoholic extract of cat's claw (*Uncaria tomentosa*) (Willd. Ex Roem. & Schult) in an *in vivo* carcinosarcoma model. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(1), 127-133.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.029>
- Eivazzadeh-Keihan, R., Noruzi, E. B., Mehrban, S. F., Aliabadi, H. A. M., Karimi, M., Mohammadi, A., Maleki, A., Mahdavi, M., Larijani, B., & Shalan, A. E. (2022). Review: The latest advances in biomedical applications of chitosan hydrogel as a powerful natural structure with eye-catching biological properties. *Journal of Materials Science*, 57(6), 3855-3891. <https://doi.org/10.1007/s10853-021-06757-6>
- Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007, Mar). Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol*, 127(3), 514-525.
doi: 10.1038/sj.jid.5700701
- Everts, P., Onishi, K., Jayaram, P., Lana, J. F., & Mautner, K. (2020). Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), Article 20.
<https://doi.org/10.3390/ijms21207794>
- Gupta, S., & Vyas, S. P. (2010). Carbopol/Chitosan Based pH Triggered In Situ Gelling System for Ocular Delivery of Timolol Maleate. *Scientia Pharmaceutica*, 78(4), 959. <https://doi.org/10.3797/scipharm.1001-06>
- Heitzman, M. E., Neto, C. C., Winiarz, E., Vaisberg, A. J., & Hammond, G. B. (2005). Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry*, 66(1), 5-29. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.10.022>
- Irimia, T., Dinu-Pîrvu, C.-E., Ghica, M. V., Lupuleasa, D., Muntean, D.-L., Udeanu, D. I., & Popa, L. (2018). Chitosan-Based In Situ Gels for Ocular Delivery of

- Therapeutics: A State-of-the-Art Review. *Marine Drugs*, 16(10), 373.
<https://doi.org/10.3390/md16100373>
- Jang, H.-Y., Myoung, S. M., Choe, J. M., Kim, T., Cheon, Y.-P., Kim, Y. M., & Park, H. (2017). Effects of Autologous Platelet-Rich Plasma on Regeneration of Damaged Endometrium in Female Rats. *Yonsei Medical Journal*, 58(6), 1195.
<https://doi.org/10.3349/ymj.2017.58.6.1195>
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Nair, S. V., & Tamura, H. (2010). Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. *Biotechnology Advances*, 28(1), 142-150. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.11.001>
- Kaur, A., Goel, R., Singh, R., Bhardwaj, A., Kumari, R., & Gambhir, R. S. (2022). Identifying monkeypox: Do dental professionals have adequate knowledge and awareness? *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 73(3), 365-371.
<https://doi.org/10.32394/rpzh.2022.0226>
- Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51-63.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012>
- Labrie, F., Martel, C., & Pelletier, G. (2017, Apr 24). Is vulvovaginal atrophy due to a lack of both estrogens and androgens? *Menopause*, 24(4), 452-461. DOI: 10.1097/GME.0000000000000768
- Labrie, F., Archer, D. F., Koltun, W., Vachon, A., Young, D., Frenette, L., Portman, D., Montesino, M., Côté, I., Parent, J., Lavoie, L., BSc, A. B., Martel, C., Vaillancourt, M., Balser, J., & Moyneur, É. (2018). Efficacy of intravaginal dehydroepiandrosterone (DHEA) on moderate to severe dyspareunia and vaginal

- dryness, symptoms of vulvovaginal atrophy, and of the genitourinary syndrome of menopause. *Menopause*, 25(11), 1339.
<https://doi.org/10.1097/GME.0000000000001238>
- Laus, G., Brössner, D., & Keplinger, K. (1997). Alkaloids of peruvian *Uncaria tomentosa*. *Phytochemistry*, 45(4), 855-860. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00061-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00061-7)
- López-Belmonte, J., Nieto, C., Estevez, J., Delgado, J. L., & Moscoso del Prado, J. (2012). Comparative uterine effects on ovariectomized rats after repeated treatment with different vaginal estrogen formulations. *Maturitas*, 72(4), 353-358.
<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2012.05.007>
- Malacara, J. M., Canto de Cetina, T., Bassol, S., González, N., Cacique, L., Vera-Ramírez, M. L., & Nava, L. E. (2002). Symptoms at pre- and postmenopause in rural and urban women from three States of Mexico. *Maturitas*, 43(1), 11-19.
[https://doi.org/10.1016/s0378-5122\(02\)00077-4](https://doi.org/10.1016/s0378-5122(02)00077-4)
- Marshall, S., Milligan, A., & Yates, R. (1994). *Experimental techniques and anaesthesia in the rat and mouse*. CABI Databases.
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19942209429>
- Mawazi, S. M., Kumar, M., Ahmad, N., Ge, Y., & Mahmood, S. (2024). Recent Applications of Chitosan and Its Derivatives in Antibacterial, Anticancer, Wound Healing, and Tissue Engineering Fields. *Polymers*, 16(10), Article 10.
<https://doi.org/10.3390/polym16101351>
- Navarro Hoyos, M., Sánchez-Patán, F., Murillo Masis, R., Martín-Álvarez, P. J., Zamora Ramirez, W., Monagas, M. J., & Bartolomé, B. (2015). Phenolic Assesment of *Uncaria tomentosa* L. (Cat's Claw): Leaves, Stem, Bark and Wood Extracts. *Molecules*, 20(12), 22703-22717. <https://doi.org/10.3390/molecules201219875>

- Navarro-Hoyos, M., Lebrón-Aguilar, R., Quintanilla-López, J. E., Cueva, C., Hevia, D., Quesada, S., Azofeifa, G., Moreno-Arribas, M. V., Monagas, M., & Bartolomé, B. (2017). Proanthocyanidin Characterization and Bioactivity of Extracts from Different Parts of *Uncaria tomentosa* L. (Cat's Claw). *Antioxidants*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/antiox6010012>
- Nicholson, J. K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., & Pettersson, S. (2012, junio 8). Host-Gut Microbiota Metabolic Interactions. *Science*, 336(6086), 1262-1267. DOI: 10.1126/science.1223813
- Number 5, S. V. 24. (2019, octubre 1). *Platelet-Rich Plasma (PRP): Current Applications in Dermatology*. <https://www.skintherapyletter.com/dermatology/platelet-rich-plasma-prp/>
- Pineda-Cortel, M. R., Suarez, C., Cabrera, J.-T., Daya, M., Bernardo-Bueno, M. M., Vergara, R. C., & Villavieja, A. (2023). Biotherapeutic Applications of Platelet-Rich Plasma in Regenerative Medicine. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 20(6), 811-828. <https://doi.org/10.1007/s13770-023-00560-x>
- Rodríguez Flores, J., Palomar Gallego, M. A., & Torres García-Denche, J. (2012). Plasma rico en plaquetas: Fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 34(1), 8-17.
- Rojas, P.A., Timoteo, O., Aguilar, J.L. (2019) Effects of an extract of *Uncaria tomentosa* (uña de gato) on TNF- α and IL-10 production, and on leukocyte migration in the mouse air pouch model. *Rev Soc Peru Reumatología*, 25,13-24
- Romero, T. F., Román, G. S., & Hernández, S. C. (s. f.). *Protocolo para la citología vaginal directa de ratas de laboratorio*.
- Salvatore, S., Nappi, R. E., Zerbinati, N., Calligaro, A., Ferrero, S., Origoni, M., Candiani,

- M., & Maggiore, U. L. R. (2014). A 12-week treatment with fractional CO₂ laser for vulvovaginal atrophy: A pilot study. *Climacteric*.
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/13697137.2014.899347>
- Sandoval, M., Charbonnet, R. M., Okuhama, N. N., Roberts, J., Krenova, Z., Trentacosti, A. M., & Miller, M. J. S. (2000). Cat's claw inhibits TNF- α production and scavenges free radicals: Role in cytoprotection. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(1), 71-78. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00327-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00327-0)
- Sato, T., Fukazawa, Y., Kojima, H., Enari, M., Iguchi, T., & Ohta, Y. (1997). Apoptotic cell death during the estrous cycle in the rat uterus and vagina. *The Anatomical Record*, 248(1), 76-83. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199705\)248:1<76::AID-AR9>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199705)248:1<76::AID-AR9>3.0.CO;2-D)
- Sourla, A., Flamand, M., Bélanger, A., & Labrie, F. (1998). Effect of dehydroepiandrosterone on vaginal and uterine histomorphology in the rat. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 66(3), 137-149.
[https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(98\)00052-1](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(98)00052-1)
- Su, H. I., & Freeman, E. W. (2009). Hormone changes associated with the menopausal transition. *Minerva Ginecologica*, 61(6), 483.
- Suckling, J., Lethaby, A., & Kennedy, R. (2006). Local oestrogen for vaginal atrophy in postmenopausal women. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, CD001500. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001500.pub2>
- Szymański, J. K., Słabuszewska-Jóźwiak, A., & Jakiel, G. (2021). Vaginal Aging—What We Know and What We Do Not Know. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9), 4935. <https://doi.org/10.3390/ijerph18094935>
- Totsuka Sutto, S. E., Rodríguez Roldan, Y. I., Cardona Muñoz, E. G., Garcia Cobian, T.

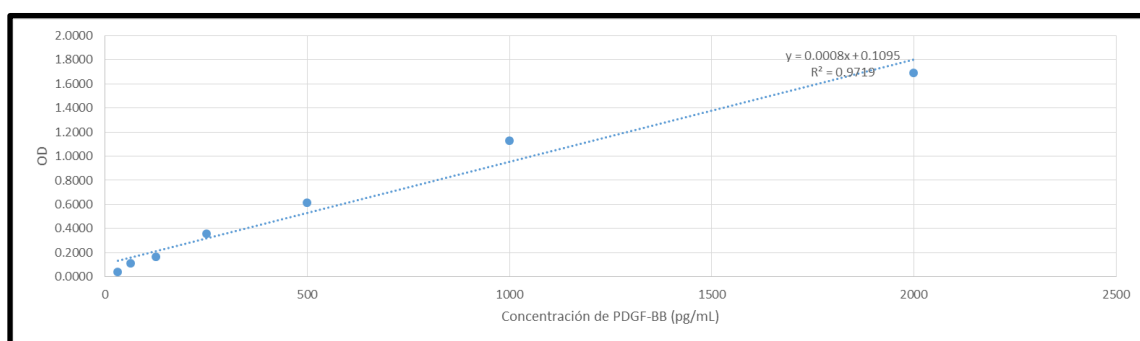
- A., Pascoe Gonzalez, S., Martínez Rizo, A., Mendez Del Villar, M., & García Benavides, L. (2018). Efficacy and safety of the combination of isosorbide dinitrate spray and chitosan gel for the treatment of diabetic foot ulcers: A double-blind, randomized, clinical trial. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 15(4), 348-351. <https://doi.org/10.1177/1479164118769528>
- Vailati, S., Melloni, E., Riscassi, E., Behr Roussel, D., & Sardina, M. (2013). Evaluation of the Effects of a New Intravaginal Gel, Containing Purified Bovine Colostrum, on Vaginal Blood Flow and Vaginal Atrophy in Ovariectomized Rat. *Sexual Medicine*, 1(2), 35-43. <https://doi.org/10.1002/sm2.8>
- Wang, X., Li, J., Lu, W., Gao, F., Zhang, S., & Li, J. (2024). Therapeutic roles of platelet-rich plasma to restore female reproductive and endocrine dysfunction. *Frontiers in Endocrinology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1374382>
- Yang, L., Song, T., He, J., Guo, Y., Qi, M., Wang, H., & Wang, H. (2022). Establishment of a Vaginal Atrophy Rat Model and its Application in Pharmacodynamic Evaluation. *Laboratory Animal and Comparative Medicine*, 42(6), 531. <https://doi.org/10.12300/j.issn.1674-5817.2022.014>
- Zhao, R., Liang, H., Clarke, E., Jackson, C., & Xue, M. (2016, December 11). Inflammation in Chronic Wounds. *International journal of molecular sciences*, 17(12), 2085. <https://doi.org/10.3390/ijms17122085>.

XI. ANEXOS

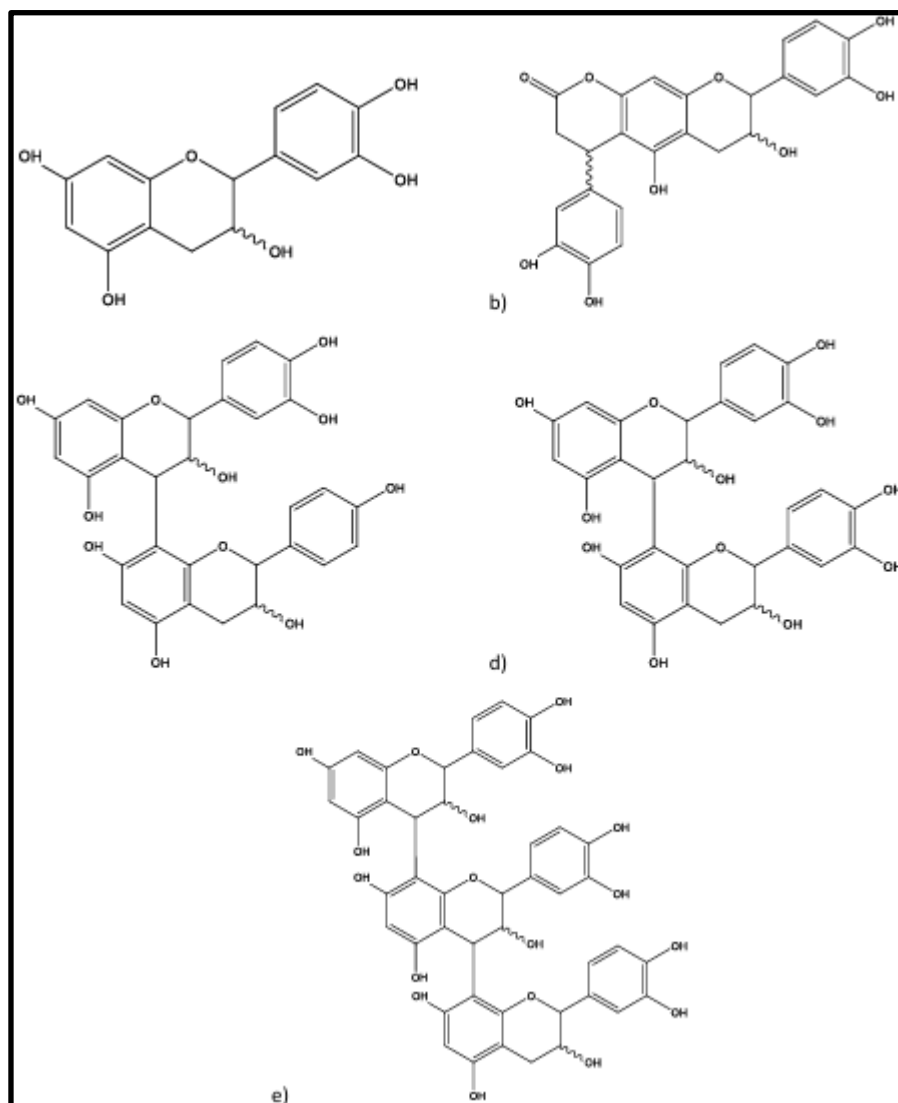
Anexo N°1: Datos de la absorbancia para la curva de calibración de la concentración de PDGF-BB

Concentración (pg/mL)	OD corregido
2000	1,6919
1000	1,1285
500	0,6156
250	0,3582
125	0,1683
62.5	0,1148
31.25	0,0413
0	0,0000

Anexo N°2: Curva de calibración de la concentración de PDGF-BB (pg/ml)



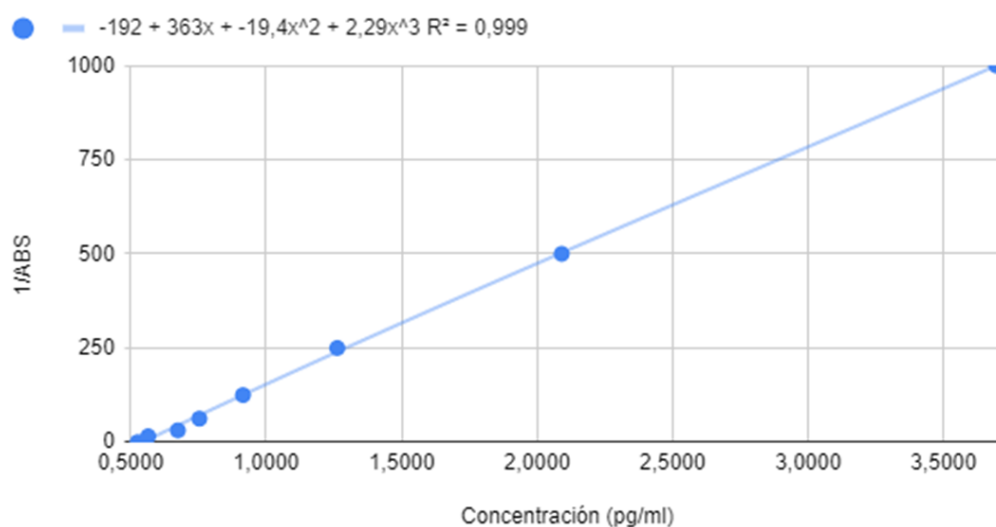
Anexo N°3. Estructuras generales de los polifenoles encontrados en el extracto de corteza de *Uncaria tomentosa*. a) Monómeros de procianidina, b) flavalignanos, c) dímeros de properlagonidina, d) dímeros de procianidina, e) trímeros de procianidina.



Anexo N°4: Datos de la absorbancia para la curva de calibración de la concentración de estradiol.

Concentración (pg/ml)	ABS	1/ABS
1000	0.2706	3.6955
500	0.4782	2.0912
250	0.7919	1.2628
125	1.0932	0.9147
62.5	1.3265	0.7539
31.25	1.4828	0.6744
15.63	1.7705	0.5648
0	1.9008	0.5261

Anexo N°5 Curva de calibración de la concentración de Estradiol(pg/ml)



Anexo N°6 Comparación por parejas de inflamación vaginal por Kruskal-Wallis

Comparaciones por parejas de Grupos

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Error estándar	Estadístico de prueba estándar	Sig.
C0-C1	.000	6.479	.000	1.000
C0-C2	.000	6.689	.000	1.000
C0-LP20%-UG	-7.778	6.479	-1.200	.230
C0-LP20%	-8.750	6.689	-1.308	.191
C0-UG	-8.750	6.689	-1.308	.191
C0-LP30%	-11.667	6.479	-1.801	.072
C0-LP30-UG	-19.444	6.479	-3.001	.003
C1-C2	.000	6.852	.000	1.000
C1-LP20%-UG	-7.778	6.647	-1.170	.242
C1-LP20%	-8.750	6.852	-1.277	.202
C1-UG	-8.750	6.852	-1.277	.202
C1-LP30%	-11.667	6.647	-1.755	.079
C1-LP30-UG	-19.444	6.647	-2.925	.003
C2-LP20%-UG	-7.778	6.852	-1.135	.256
C2-LP20%	-8.750	7.051	-1.241	.215
C2-UG	-8.750	7.051	-1.241	.215
C2-LP30%	-11.667	6.852	-1.703	.089
C2-LP30-UG	-19.444	6.852	-2.838	.005
LP20%-UG-LP20%	.972	6.852	.142	.887
LP20%-UG-UG	-.972	6.852	-.142	.887
LP20%-UG-LP30%	-3.889	6.647	-.585	.559
LP20%-UG-LP30-UG	-11.667	6.647	-1.755	.079
LP20%-UG	.000	7.051	.000	1.000
LP20%-LP30%	-2.917	6.852	-.426	.670
LP20%-LP30-UG	-10.694	6.852	-1.561	.119
UG-LP30%	2.917	6.852	.426	.670
UG-LP30-UG	10.694	6.852	1.561	.119
LP30%-LP30-UG	-7.778	6.647	-1.170	.242

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.

Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es .050.

Anexo N°7 Comparación por parejas del epitelio de revestimiento por Kruskal-Wallis

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.
C0-LP20%-UG	-3,889	7,688	-,506	,613
C0-C2	-4,375	7,937	-,551	,581
C0-LP20%	-4,375	7,937	-,551	,581
C0-LP30%	-7,778	7,688	-1,012	,312
C0-C1	-23,333	7,688	-3,035	,002
C0-LP30%-UG	-23,333	7,688	-3,035	,002
C0-UG	-30,625	7,937	-3,858	,000
LP20%-UG-C2	,486	8,131	,060	,952
LP20%-UG-LP20%	,486	8,131	,060	,952
LP20%-UG-LP30%	-3,889	7,888	-,493	,622
LP20%-UG-C1	19,444	7,888	2,465	,014
LP20%-UG-LP30%-UG	-19,444	7,888	-2,465	,014
LP20%-UG-UG	-26,736	8,131	-3,288	,001
C2-LP20%	,000	8,367	,000	1,000
C2-LP30%	-3,403	8,131	-,419	,676
C2-C1	18,958	8,131	2,332	,020
C2-LP30%-UG	-18,958	8,131	-2,332	,020
C2-UG	-26,250	8,367	-3,137	,002
LP20%-LP30%	-3,403	8,131	-,419	,676
LP20%-C1	18,958	8,131	2,332	,020
LP20%-LP30%-UG	-18,958	8,131	-2,332	,020
LP20%-UG	-26,250	8,367	-3,137	,002
LP30%-C1	15,556	7,888	1,972	,049
LP30%-LP30%-UG	-15,556	7,888	-1,972	,049
LP30%-UG	-22,847	8,131	-2,810	,005
C1-LP30%-UG	,000	7,888	,000	1,000
C1-UG	-7,292	8,131	-,897	,370
LP30%-UG-UG	-7,292	8,131	-,897	,370

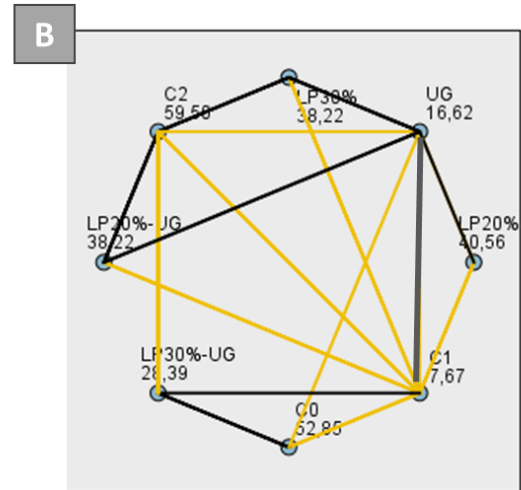
Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la M las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es .05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni.

Anexo N°8 Comparación por parejas del número de capas del epitelio vaginal por Kruskal-Wallis

Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de VAR00001.

A	Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
	C1-UG	-8,958	9,548	-,938	,348	1,000
	C1-LP30%-UG	-20,722	9,263	-2,237	,025	,708
	C1-LP20%-UG	-30,556	9,263	-3,299	,001	,027
	C1-LP30%	-30,556	9,263	-3,299	,001	,027
	C1-LP20%	-32,896	9,548	-3,445	,001	,016
	C1-C0	45,183	9,028	5,005	,000	,000
	C1-C2	-51,833	9,902	-5,234	,000	,000
	UG-LP30%-UG	11,764	9,548	1,232	,218	1,000
	UG-LP20%-UG	21,597	9,548	2,262	,024	,664
	UG-LP30%	21,597	9,548	2,262	,024	,664
	UG-LP20%	23,938	9,825	2,436	,015	,415
	UG-C0	36,225	9,320	3,887	,000	,003
	UG-C2	42,875	10,169	4,216	,000	,001
	LP30%-UG-LP20%-UG	9,833	9,263	1,062	,288	1,000
	LP30%-UG-LP30%	9,833	9,263	1,062	,288	1,000
	LP30%-UG-LP20%	12,174	9,548	1,275	,202	1,000
	LP30%-UG-C0	24,461	9,028	2,709	,007	,189
	LP30%-UG-C2	31,111	9,902	3,142	,002	,047
	LP20%-UG-LP30%	,000	9,263	,000	1,000	1,000
	LP20%-UG-LP20%	2,340	9,548	,245	,806	1,000
	LP20%-UG-C0	14,628	9,028	1,620	,105	1,000
	LP20%-UG-C2	21,278	9,902	2,149	,032	,886
	LP30%-LP20%	2,340	9,548	,245	,806	1,000
	LP30%-C0	14,628	9,028	1,620	,105	1,000
	LP30%-C2	21,278	9,902	2,149	,032	,886
	LP20%-C0	12,287	9,320	1,318	,187	1,000
	LP20%-C2	18,938	10,169	1,862	,063	1,000
	C0-C2	-6,650	9,683	-,687	,492	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas. Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias comparaciones.



A= Comparación por parejas; B= Diagrama de unión de grupos con $p < 0.005$ (amarillo), $p > 0.005$ (negro).

Anexo N° 9 Prueba de normalidad por Kolmogorov-Smimpov para los pesos

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso.vag	,103	68	,068	,956	68	,018
Peso.uter	,256	68	,000	,690	68	,000
Peso.corp	,079	68	,200 [*]	,980	68	,339
P.v./P.corp	,154	68	,000	,925	68	,001
P.u/P.corp	,277	68	,000	,667	68	,000
P.vag/P.repro	,122	68	,013	,935	68	,002
P.utr/P.repro	,122	68	,013	,935	68	,002
P.vag/P.uter	,062	68	,200 [*]	,977	68	,245
P.uter/P.vag	,227	68	,000	,686	68	,000

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Anexo N° 10 Comparación de medias por parejas por Games-Howell

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Peso.vag
Games-Howell

(i) Grupos	(j) Grupos	Diferencia de medias (i-j)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
C0	C1	,13945	,05302	,217	-,0453	,3242
	C2	,08377	,03403	,299	-,0405	,2080
	LP20%	,13115 [*]	,03470	,038	,0058	,2565
	LP20%-UG	,14578 [*]	,03587	,020	,0183	,2732
	LP30%	,12735	,04457	,144	-,0258	,2805
	LP30%-UG	,14857	,05156	,143	-,0305	,3277
	UG	,13577	,04750	,151	-,0298	,3014
C1	C0	-,13945	,05302	,217	-,3242	,0453
	C2	-,05569	,04406	,892	-,2238	,1124
	LP20%	-,00830	,04458	1,000	-,1768	,1602
	LP20%-UG	,00632	,04550	1,000	-,1630	,1757
	LP30%	-,01211	,05262	1,000	-,1965	,1722
	LP30%-UG	,00911	,05867	1,000	-,1941	,2123
	UG	-,00369	,05513	1,000	-,1966	,1893
C2	C0	-,08377	,03403	,299	-,2080	,0405
	C1	,05569	,04406	,892	-,1124	,2238
	LP20%	,04739	,01828	,237	-,0173	,1121
	LP20%-UG	,06201	,02042	,116	-,0099	,1339
	LP30%	,04358	,03341	,879	-,0810	,1681
	LP30%-UG	,06480	,04229	,776	-,0961	,2257
	UG	,05200	,03724	,838	-,0926	,1966

*= $p < 0.005$ es significativo

Anexo N° 11 Prueba de levene para la homogeneidad

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Peso.vag	Se basa en la media	2,664	7	62	,018
	Se basa en la mediana	1,951	7	62	,076
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,951	7	41,749	,085
	Se basa en la media recortada	2,626	7	62	,019

$p < 0-005$ es significativa

Anexo N° 12 Comparación en parejas del Peso de útero (mg) por Kruskal-Wallis con una corrección de bonferroni

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
UG-LP20%-UG	,375	9,889	,038	,970	1,000
UG-LP30%	5,819	9,889	,588	,556	1,000
UG-C1	6,597	9,889	,667	,505	1,000
UG-LP20%	15,000	10,176	1,474	,140	1,000
UG-LP30%-UG	17,486	9,889	1,768	,077	1,000
UG-C2	26,500	10,176	2,604	,009	,258
UG-C0	36,675	9,653	3,799	,000	,004
LP20%-UG-LP30%	-5,444	9,594	-,568	,570	1,000
LP20%-UG-C1	6,222	9,594	,649	,517	1,000
LP20%-UG-LP20%	14,625	9,889	1,479	,139	1,000
LP20%-UG-LP30%-UG	-17,111	9,594	-1,784	,074	1,000
LP20%-UG-C2	26,125	9,889	2,642	,008	,231
LP20%-UG-C0	36,300	9,351	3,882	,000	,003
LP30%-C1	,778	9,594	,081	,935	1,000
LP30%-LP20%	9,181	9,889	,928	,353	1,000
LP30%-LP30%-UG	-11,667	9,594	-1,216	,224	1,000
LP30%-C2	20,681	9,889	2,091	,037	1,000
LP30%-C0	30,856	9,351	3,300	,001	,027
C1-LP20%	-8,403	9,889	-,850	,395	1,000
C1-LP30%-UG	-10,889	9,594	-1,135	,256	1,000
C1-C2	-19,903	9,889	-2,013	,044	1,000
C1-C0	30,078	9,351	3,217	,001	,036
LP20%-LP30%-UG	-2,486	9,889	-,251	,802	1,000
LP20%-C2	11,500	10,176	1,130	,258	1,000
LP20%-C0	21,675	9,653	2,245	,025	,693
LP30%-UG-C2	9,014	9,889	,912	,362	1,000
LP30%-UG-C0	19,189	9,351	2,052	,040	1,000
C2-C0	10,175	9,653	1,054	,292	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

$p < 0-005$ es significativo (amarillo)

Anexo N° 13 Comparación en parejas de la relación de Peso vaginal/Peso corporal $\times 10^{-3}$ por Kruskal-Wallis con una corrección de bonferroni

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
C1-LP30%-UG	-1,944	9,529	-,204	,838	1,000
C1-LP20%	-3,319	9,822	-,338	,735	1,000
C1-UG	-5,757	9,822	-,586	,558	1,000
C1-LP30%	-6,278	9,529	-,659	,510	1,000
C1-LP20%-UG	-7,000	9,529	-,735	,463	1,000
C1-C2	-20,694	9,822	-2,107	,035	,983
C1-C0	35,594	9,288	3,832	,000	,004
LP30%-UG-LP20%	1,375	9,822	,140	,889	1,000
LP30%-UG-UG	-3,812	9,822	-,388	,698	1,000
LP30%-UG-LP30%	4,333	9,529	,455	,649	1,000
LP30%-UG-LP20%-UG	5,056	9,529	,531	,596	1,000
LP30%-UG-C2	18,750	9,822	1,909	,056	1,000
LP30%-UG-C0	33,650	9,288	3,623	,000	,008
LP20%-UG	-2,438	10,107	-,241	,809	1,000
LP20%-LP30%	-2,958	9,822	-,301	,763	1,000
LP20%-LP20%-UG	-3,681	9,822	-,375	,708	1,000
LP20%-C2	17,375	10,107	1,719	,086	1,000
LP20%-C0	32,275	9,588	3,366	,001	,021
UG-LP30%	,521	9,822	,053	,958	1,000
UG-LP20%-UG	1,243	9,822	,127	,899	1,000
UG-C2	14,938	10,107	1,478	,139	1,000
UG-C0	29,837	9,588	3,112	,002	,052
LP30%-LP20%-UG	,722	9,529	,076	,940	1,000
LP30%-C2	14,417	9,822	1,468	,142	1,000
LP30%-C0	29,317	9,288	3,157	,002	,045
LP20%-UG-C2	13,694	9,822	1,394	,163	1,000
LP20%-UG-C0	28,594	9,288	3,079	,002	,058
C2-C0	14,900	9,588	1,554	,120	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

$p < 0-005$ es significante (amarillo)

Anexo N° 14 Comparación en parejas de la relación de Peso uterol/Peso corporal $\times 10^{-3}$ por Kruskal-Wallis con una corrección de bonferroni.

Cada fila muestra el rango promedio de muestras de grupos.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
LP20%-UG-UG	-,431	9,775	-,044	,965	1,000
LP20%-UG-LP30%	-3,944	9,483	-,416	,677	1,000
LP20%-UG-C1	4,278	9,483	,451	,652	1,000
LP20%-UG-LP20%	9,181	9,775	,939	,348	1,000
LP20%-UG-LP30%-UG	-17,167	9,483	-1,810	,070	1,000
LP20%-UG-C2	24,118	9,775	2,467	,014	,381
LP20%-UG-C0	34,556	9,243	3,739	,000	,005
UG-LP30%	3,514	9,775	,359	,719	1,000
UG-C1	3,847	9,775	,394	,694	1,000
UG-LP20%	8,750	10,058	,870	,384	1,000
UG-LP30%-UG	16,736	9,775	1,712	,087	1,000
UG-C2	23,688	10,058	2,355	,019	,519
UG-C0	34,125	9,542	3,576	,000	,010
LP30%-C1	,333	9,483	,035	,972	1,000
LP30%-LP20%	5,236	9,775	,536	,592	1,000
LP30%-LP30%-UG	-13,222	9,483	-1,394	,163	1,000
LP30%-C2	20,174	9,775	2,064	,039	1,000
LP30%-C0	30,611	9,243	3,312	,001	,026
C1-LP20%	-4,903	9,775	-,502	,616	1,000
C1-LP30%-UG	-12,889	9,483	-1,359	,174	1,000
C1-C2	-19,840	9,775	-2,030	,042	1,000
C1-C0	30,278	9,243	3,276	,001	,030
LP20%-LP30%-UG	-7,986	9,775	-,817	,414	1,000
LP20%-C2	14,938	10,058	1,485	,138	1,000
LP20%-C0	25,375	9,542	2,659	,008	,219
LP30%-UG-C2	6,951	9,775	,711	,477	1,000
LP30%-UG-C0	17,389	9,243	1,881	,060	1,000
C2-C0	10,438	9,542	1,094	,274	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

$p < 0-005$ es significativo (amarillo)

Anexo N° 15 Comparación en parejas de la relación de Peso uterol/Peso vaginal por Kruskall-Wallis con una corrección de bonferroni.

Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Grupos.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
LP20%-UG-UG	-,306	9,887	-,031	,975	1,000
LP20%-UG-LP30%	-8,222	9,592	-,857	,391	1,000
LP20%-UG-C1	13,667	9,592	1,425	,154	1,000
LP20%-UG-LP20%	14,556	9,887	1,472	,141	1,000
LP20%-UG-C2	23,681	9,887	2,395	,017	,465
LP20%-UG-LP30%-UG	-25,167	9,592	-2,624	,009	,244
LP20%-UG-C0	32,206	9,349	3,445	,001	,016
UG-LP30%	7,917	9,887	,801	,423	1,000
UG-C1	13,361	9,887	1,351	,177	1,000
UG-LP20%	14,250	10,174	1,401	,161	1,000
UG-C2	23,375	10,174	2,298	,022	,604
UG-LP30%-UG	24,861	9,887	2,515	,012	,334
UG-C0	31,900	9,652	3,305	,001	,027
LP30%-C1	5,444	9,592	,568	,570	1,000
LP30%-LP20%	6,333	9,887	,641	,522	1,000
LP30%-C2	15,458	9,887	1,563	,118	1,000
LP30%-LP30%-UG	-16,944	9,592	-1,767	,077	1,000
LP30%-C0	23,983	9,349	2,565	,010	,289
C1-LP20%	-,889	9,887	-,090	,928	1,000
C1-C2	-10,014	9,887	-1,013	,311	1,000
C1-LP30%-UG	-11,500	9,592	-1,199	,231	1,000
C1-C0	18,539	9,349	1,983	,047	1,000
LP20%-C2	9,125	10,174	,897	,370	1,000
LP20%-LP30%-UG	-10,611	9,887	-1,073	,283	1,000
LP20%-C0	17,650	9,652	1,829	,067	1,000
C2-LP30%-UG	-1,486	9,887	-,150	,881	1,000
C2-C0	8,525	9,652	,883	,377	1,000
LP30%-UG-C0	7,039	9,349	,753	,452	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

p< 0-005 es significativo (amarillo)