



### Información del artículo

#### Fecha de recibido

4 de enero del 2023

#### Fecha de aprobado

29 de marzo del 2023

#### Correspondencia

Ivan Quispe-Díaz.  
iquispe@unitru.edu.pe

#### Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

#### Contribuciones de autoría

PRM y LVV participaron en la conceptualización, investigación, análisis formal y redacción (borrador original). IQD y RYJ participaron en la metodología, supervisión, validación, visualización y redacción (revisión y edición). EAT participó en la supervisión, validación y redacción (revisión y edición).

#### Financiamiento

Autofinanciado

**Citar como:** Rivera-Martínez P, Vásquez-Vigo L, Quispe-Díaz IM, Ybañez-Julca RO, Acuña-Tarrillo E. Efecto antiangiogénico de *Salvia hispánica* (chía) sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*. Rev Peru Med Integrativa. 2023; 8(1):26-31.

## Efecto antiangiogénico de *Salvia hispánica* (chía) sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*

### Antiangiogenic effect of *Salvia hispánica* (chia) on the chorioallantoic membrane of *Gallus gallus domesticus*

Pilar Rivera-Martínez<sup>1,a</sup>, Lizette Vásquez-Vigo<sup>1,a</sup>, Iván M. Quispe-Díaz<sup>1,a,b</sup>, Roberto O. Ybañez-Julca<sup>1,a,b</sup>, Edwin Acuña-Tarrillo<sup>1,c</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

<sup>a</sup> Bachiller en Farmacia y Bioquímica.

<sup>b</sup> Doctor en Farmacia y Bioquímica.

<sup>c</sup> Estudiante de Farmacia y Bioquímica.

### RESUMEN

Las semillas de *Salvia hispánica* (chía) han demostrado poseer una actividad antioxidante importante, que está relacionada a la angiogénesis. Se realizó un estudio cuasi experimental, analítico, prospectivo para evaluar el efecto antiangiogénico del extracto de aceite de *Salvia hispánica* sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*, en las concentraciones: 27,81mg/mL, 55,62 mg/mL y 83,43 mg/mL. Se comparó con los grupos: blanco (agua ultrapura), control (cloroformo) y patrón (captopril). A los 9 días de incubación, los huevos embrionados fueron distribuidos en pellets con cada solución y a los 12 días se observó la membrana corioalantoidea. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ). Durante la observación de la membrana corioalantoidea en los grupos tratados con aceite de *Salvia hispánica*, se halló la reducción en la formación de nuevos vasos sanguíneos. El aceite de *Salvia hispánica* presentó efecto antiangiogénico sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*.

**Palabras clave:** *Salvia hispánica*; Inhibidor de la angiogénesis; Neovascularización Fisiológica (Fuente: DeCS Bireme).

### ABSTRACT

*Salvia hispánica* (chia) seeds have been shown to possess strong antioxidant activity, which is related to angiogenesis. A quasi-experimental, analytical, prospective study was carried out to evaluate the antiangiogenic effect of *Salvia hispánica* oil extract on the chorioallantoic membrane of *Gallus gallus domesticus*, at concentrations: 27.81mg/mL, 55.62mg/mL and 83.43mg. mg/mL. It was compared with the groups: blank (ultrapure water), control (chloroform) and standard (captopril). At 9 days of incubation, the embryonated eggs were distributed in pellets with each solution and at 12 days the chorioallantoic membrane was observed. Statistically significant differences were found between the treatments ( $p < 0.05$ ). During the observation of the chorioallantoic membrane in the groups treated with *Salvia hispánica* oil, the reduction in the formation of new blood vessels was found. *Salvia hispánica* oil presented an antiangiogenic effect on the chorioallantoic membrane of *Gallus gallus domesticus*.

**Keywords:** *Salvia hispánica*; Angiogenesis Inhibitors; Neovascularization, Physiologic. (Source: MeSH).

## INTRODUCCIÓN

La angiogénesis es el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasculatura pre-existente<sup>(1)</sup>. No obstante, la pérdida de este control se denomina angiogénesis patológica y conlleva a procesos patológicos como tumores, retinopatía diabética y la arterioesclerosis<sup>(2)</sup>. Durante la angiogénesis participan células y componentes histológicos como las células endoteliales, los fibroblastos y los factores de crecimiento<sup>(3)</sup>; estos últimos estimulados por la hipoxia, el óxido nítrico (NO), la isquemia y la inflamación. Dentro de este grupo se encuentran el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGFs), el factor de crecimiento transformante beta (FGTβ); la angiopoyetina-1, la interleucina-6 (IL-6), la interleucina-8 (IL-8), y factor de necrosis tumoral-α (TNF-α)<sup>(2,4)</sup>.

En el año 1971, se propuso como diana terapéutica del cáncer la inhibición de la angiogénesis, desde ese momento se han desarrollado diferentes fármacos dirigidos alcanzar a este objetivo<sup>(5)</sup>. Los fármacos que a lo largo de los años se han ido desarrollando se pueden clasificar, según su mecanismo de acción, en anticuerpos monoclonales o inhibidores selectivos de la actividad quinasa<sup>(6)</sup>. Así pues, las terapias antiangiogénicas han surgido como una alternativa de gran potencial a las quimioterapias convencionales<sup>(7)</sup>, considerando entre ellas el uso de algunas plantas medicinales con potencial efecto antiangiogénico.

Según la OMS, las plantas medicinales son especies vegetales que contienen principios activos que pueden ser empleados para propósitos terapéuticos o ser utilizados como precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Además, se estima que el 80% de las personas que viven en regiones subdesarrolladas emplean la medicina tradicional con utilización de plantas para el cuidado de la salud<sup>(8)</sup>. Entre ellas se conoce a la *Salvia hispánica*, una planta originaria de Centroamérica y México, perteneciente a la familia de las *Lamiaceae*, así como la menta, el tomillo, el romero y el orégano<sup>(9)</sup>. Las especies de *Salvia* poseen una potente actividad antiangiogénica directa e indirecta que puede tener potencial quimioterapéutico y/o quimiopreventivo<sup>(10)</sup>. Las semillas de *Salvia hispánica* han demostrado que poseen además una fuerte actividad antioxidante debido a la presencia de ácidos grasos omega-3 estable<sup>(11)</sup>.

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto antiangiogénico de *Salvia hispánica* (chía) sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio cuasi experimental, analítico, prospectivo; con semillas de chía obtenidas en el mercado de una ciudad de la costa norte del Perú. La población estuvo constituida por 36 huevos fertilizados de la gallina, *Gallus gallus domesticus* (primer día de embrionados), adquiridos de la Avícola Nor Aves de Trujillo, provincia de Trujillo, La Libertad, Perú. Se emplearon 6 huevos para cada grupo de estudio.

La variable independiente fue el tratamiento con el aceite de *Salvia hispánica*, evaluado en diferentes concentraciones: 27,81mg/mL, 55,62 mg/mL y 83,43 mg/mL. Para ello se formaron los grupos: blanco (agua ultrapura 30 µL), control (cloroformo 30 µL q.p) y patrón (captopril 30 µL [0,01mg/mL]). La variable dependiente fue el efecto antiangiogénico, medida a través de la cuantificación de vasos sanguíneos y la observación con microscopio estereoscópico para evaluar el cambio en la densidad de los capilares y la medida del efecto antiangiogénico a través de un sistema de puntuación.

Se adquirieron 500 g de semillas de *Salvia hispánica* en el mercado "Jesús de Nazaret" de Trujillo, La Libertad; y que luego fueron certificadas por el *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo. Y trasladadas al laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. Los cartuchos de papel de filtro fueron llenados con semillas de *Salvia hispánica*. Se introdujo el cartucho en el extractor Soxhlet, se armó el equipo y se agregó cantidad suficiente del solvente (cloroformo) para la extracción. Se sometió a calentamiento a temperatura de ebullición del solvente (68°C) hasta agotamiento total de las grasas y se eliminó el solvente. Finalmente, se procedió al aclaramiento del aceite, colocándose en un embudo una cantidad adecuada de algodón, agregando luego una pequeña cantidad de sílicagel y se vació el aceite obtenido hasta ese momento<sup>(12)</sup>.

Los huevos fertilizados fueron incubados en estufa a 37°C y humedad controlada, los cuales estuvieron en posición horizontal, se les marcó en su superficie superior con una cruz para poseer una referencia con el embrión. Después de 48 horas de incubación (3er día de embrionados), a los huevos fertilizados se les realizó un orificio en el polo agudo (utilizando jeringa estéril de 5 cc) y se extrajo 3 mL de albúmina, permitiendo el descenso de la yema, impidiendo así la adherencia de la membrana corioalantoidea con la tectácea de la cáscara. Posteriormente se selló el orificio con papel film. Luego en la zona que se marcó con una cruz, mediante una tijera fina esterilizada, se realizó una ventana de 2 x 3 cm, procediendo a sellar con cinta adhesiva y continuar su incubación<sup>(13)</sup>.

A los 9 días de incubación (10mo día de embrionados), se realizó el desecho de los huevos embrionados muertos, para luego distribuirlos en 6 grupos. A estos se les retiró el papel film y se depositó el disco de papel filtro (pellet) instilándose con micropipeta 30  $\mu$ L por huevo embrionado con agua ultrapura (grupo blanco), cloroformo (grupo control), captopril (grupo patrón) y aceite de *Salvia hispánica* a las diferentes concentraciones 27,81mg/mL, 55,62 mg/mL y 83,43 mg/mL.

Al 12vo día se extrajeron los discos de papel filtro (pellets) con tijera fina estéril. Posteriormente, se cuantificó el número de vasos sanguíneos de la membrana corioalantoidea en el área de los discos de papel filtro mediante un estereoscopio. Asimismo, se utilizó la cámara digital Kodak para poder observar las ramificaciones de los vasos sanguíneos.

Para la fase de cuantificación de vasos sanguíneos, se procedió a enumerar los vasos sanguíneos de la siguiente forma: cada rama se identificó con una letra que hace referencia a su orientación con respecto a la de referencia (A, B, D, o I). Los números son enteros y hacen referencia tanto a la rama como al orden de ramificación. Del embrión parten los vasos principales que se identificó como (A1, B1, D1 e I1). Los números se colocaron en orden correlativo. Los más altos se adjudicaron a niveles de ramificación más alejados<sup>(14)</sup>.

Los efectos inhibidores de los distintos tratamientos sobre la angiogénesis en la membrana corioalantoidea fueron evaluados bajo un microscopio estereoscópico, y se evaluaron de acuerdo con el sistema de puntuación utilizado previamente en varios estudios. En este sistema de puntuación, se evaluó el cambio en la densidad de los capilares alrededor del pellet y la medida del efecto antiangiogénico<sup>(15)</sup>: 0 = Ausencia de un efecto antiangiogénico (embrión normal y no hay diferencia en los capilares que rodean); 0,5 = Efecto antiangiogénico muy débil (sin área capilar libre, pero una zona con una densidad reducida de los capilares no mayor que el área del pellet); 1 = Débil a moderado efecto antiangiogénico (pequeña zona capilar libre o un área pequeña con disminución significativa de la densidad de los capilares, menor que el doble del tamaño del pellet); 2 = Fuerte efecto antiangiogénico (un área capilar libre alrededor del pellet igual o más del doble de su tamaño).

Los datos recopilados se almacenaron en una hoja de cálculo de Excel. Para el análisis de los datos, se utilizó el software estadístico SPSS versión 21. Se utilizó el análisis de varianza para evaluar si hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos y finalmente, la prueba *post hoc* de Tukey, para evaluar cuál de los tratamientos presenta dicha diferencia, comparándose todos los datos de los grupos entre sí. El nivel de significancia se estableció en  $p < 0,05$ .

La información utilizada en este estudio se conservó bajo los principios de confidencialidad, el uso de la misma fue únicamente con fines científicos. Cabe recalcar que se aplicó el principio ético de las "3R", el cual consiste en reemplazo, reducción y refinamiento, propuesto por William Russell y Rex Burch en 1959<sup>(16)</sup>.

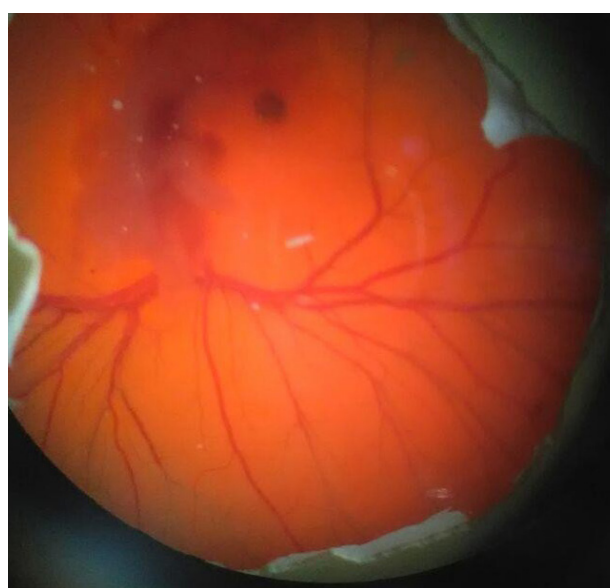
## RESULTADOS

Tras la observación visual de la angiogénesis en la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus* en los grupos tratados con aceite de semillas de *Salvia hispánica* (Figura 1), se encontró la reducción en la formación de nuevos vasos sanguíneos con el aceite de *Salvia hispánica*.

En la Tabla 1, se muestra la mediana del resultado de las puntuaciones con el tratamiento, la cual fue 2 (fuerte efecto antiangiogénico) en las tres concentraciones del aceite de *Salvia hispánica*.

En la Tabla 2 se observa el análisis de la diferencia de medias del puntaje de efecto de los tratamientos del aceite de *Salvia hispánica* sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*, a las concentraciones 27,81 mg/mL, 55,62 mg/mL y 83,43 mg/mL ( $p < 0,05$ ).

Finalmente, en la tabla 3 se pueden observar las frecuencias de la potencia del efecto antiangiogénico de los tratamientos comparado con el grupo control, se hallaron diferencias estadísticamente significativas con Captopril 30  $\mu$ L (0,01 mg/mL) y el aceite de *Salvia hispánica* a las concentraciones 30  $\mu$ L (27,81 mg/mL) y 60  $\mu$ L (55,62 mg/mL).



**Figura 1.** Inhibición de la angiogénesis en la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus* en los grupos tratados con aceite de semillas de *Salvia hispánica* a la concentración de 83,43 mg/mL.

**Tabla 1.** Mediana del puntaje de las mediciones de cada grupo de tratamiento.

| Grupo de tratamiento                                  | Número de repeticiones | Mediana | Rango intercuartílico |
|-------------------------------------------------------|------------------------|---------|-----------------------|
| Agua ultrapura 30μL (blanco)                          | 6                      | 0       | 0-0                   |
| Cloroformo 30μL (control)                             | 6                      | 0       | 0-0                   |
| Captopril 30 μL (0,01 mg/mL) (patrón)                 | 6                      | 2       | 2-2                   |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 30 μL (27,81 mg/mL) | 6                      | 2       | 2-2                   |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 60 μL (55,62 mg/mL) | 6                      | 2       | 2-2                   |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 90 μL (83,43 mg/mL) | 6                      | 2       | 2-2                   |

ANOVA: p<0,001

**Tabla 2.** Diferencia de medias del puntaje de efecto de los tratamientos con aceite de *Salvia hispánica* (chía) sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*.

| Grupos de tratamiento                                 | Valor de p |
|-------------------------------------------------------|------------|
| Cloroformo 30μL                                       | 0,306      |
| Captopril 30 μL (0,01 mg/mL)                          | 0,001      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 30 μL (27,81 mg/mL) | 0,003      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 60 μL (55,62 mg/mL) | 0,001      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 90 μL (83,43 mg/mL) | 0,005      |
| Captopril 30 μL (0,01 mg/mL)                          | 0,005      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 30 μL (27,81 mg/mL) | 0,013      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 60 μL (55,62 mg/mL) | 0,005      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 90 μL (83,43 mg/mL) | 0,021      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 30 μL (27,81 mg/mL) | 0,371      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 60 μL (55,62 mg/mL) | 0,500      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 90 μL (83,43 mg/mL) | 0,306      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 30 μL (27,81 mg/mL) | 0,371      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 60 μL (55,62 mg/mL) | 0,429      |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 90 μL (83,43 mg/mL) | 0,306      |

**Tabla 3.** Frecuencias de la potencia del efecto antiangiogénico de los tratamientos con aceite de *Salvia hispánica* (chía) sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*.

| Grupos de tratamiento                                 | Potencia del efecto antiangiogénico |           |            | Valor de p* |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------|------------|-------------|
|                                                       | Ausente (0)                         | Débil (1) | Fuerte (2) |             |
| Agua ultrapura 30μL (blanco)                          | 6 (100%)                            | 0 (0%)    | 0 (0%)     | -           |
| Cloroformo 30μL (control)                             | 5 (83,3%)                           | 0 (0%)    | 1 (16,7%)  | Ref.        |
| Captopril 30 μL (0,01 mg/mL) (patrón)                 | 0 (0%)                              | 0 (0%)    | 6 (100%)   | 0,015       |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 30 μL (27,81 mg/mL) | 0 (0%)                              | 1 (16,7%) | 5 (83,3%)  | 0,015       |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 60 μL (55,62 mg/mL) | 0 (0%)                              | 0 (0%)    | 6 (100%)   | 0,015       |
| Aceite de <i>Salvia hispánica</i> 90 μL (83,43 mg/mL) | 1 (16,7%)                           | 0 (0%)    | 5 (83,3%)  | 0,080       |

\*Comparado con el grupo control

## DISCUSIÓN

El aceite de *Salvia hispánica*, a las concentraciones 27,81 mg/mL, 55,62 mg/mL y 83,43 mg/mL, tiene efecto antiangiogénico. Zihlif M. *et al.*<sup>(10)</sup> reportaron un porcentaje medio de inhibición respecto al control sobre la membrana corioalantoidea de embrión de pollo, con una inhibición del 49,1 ± 4,1% (p=0,001) con el extracto de *S. triloba*. Sin embargo, los autores de ese estudio examinaron extractos crudos etanólicos de cuatro especies de *Salvia*, a diferencia de nuestro estudio únicamente con *Salvia hispánica*. El efecto antiangiogénico se explica por los fuertes efectos citotóxicos de las especies *S. dominica* y *S. syriaca*; el efecto inhibitorio en la proliferación de células endoteliales y migración de células endoteliales de las especies *S. triloba* y *S. hormium*; y finalmente, la actividad inhibidora sobre la expresión del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) del VEGF y el factor inducible por hipoxia 1-alfa (HIF-1α) del extracto de *S. triloba*<sup>(10)</sup>.

Asimismo, Lim *et al.*, informaron que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) como omega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), componentes de *Salvia hispánica*, inhiben el desarrollo de carcinoma hepatocelular (HCC), mediante la inhibición de la expresión de la COX-2 y β-catenina<sup>(17)</sup>. Hall M y Chavarro J, en un estudio cohorte prospectivo de 22 años con 500

casos confirmados de cáncer colorrectal, reportaron que el consumo de ácidos grasos omega-3 reduce el riesgo de cáncer de colon y colorrectal<sup>(18)</sup>. Esto se debe a que, las tres principales actividades antineoplásicas de los AGPI, son la modulación de la actividad de la COX; la alteración de la dinámica de la membrana y la función del receptor de superficie celular y el aumento del estrés oxidativo celular<sup>(19)</sup>.

Hay algunas pruebas de que la incorporación de omega-3 en fosfolípidos de las membranas de las células altera la fluidez, la estructura y/o función de las “balsas lipídicas” o *calveolae*. Estos son microdominios esfingolípidos y ricos en colesterol que flotan libremente en la membrana celular. La localización de los receptores de la superficie celular, tales como receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), en las “balsas lipídicas” es crucial para la señalización del receptor, para controlar la proliferación y la apoptosis<sup>(19)</sup>.

Asimismo, el omega-3 puede tener un efecto antineoplásico través de la alteración en el estado redox celular y un aumento del estrés oxidativo. Los ácidos grasos omega-3 son altamente peroxidizables, lo cual genera especies de oxígeno reactivas (ROS), tales como el radical superóxido. Muchas células tumorales muestran vías celulares alteradas para el manejo de ROS, incluyendo agotamiento del glutatión, el principal antioxidante intracelular. Una elevación subsiguiente de los niveles de ROS por medio de ácidos grasos omega-3 puede inducir la apoptosis de células de cáncer<sup>(19)</sup>.

Stephenson, *et al.* <sup>(20)</sup> han revisado mecanismos subyacentes más recientes que proporcionan fuertes indicios de las acciones anti-tumorales de AGPI, omega-3 en las características del cáncer. En primer lugar, AGPI,

omega-3 inhibe la transducción de señal de crecimiento. Asimismo, regula a la baja el EGFR, proteína quinasa C (PKC), *Ras*, y NF- $\kappa$ B, factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), que son importantes mediadores de señalización celular que se encuentran a menudo elevados en la carcinogénesis. En segundo lugar, AGPI, omega-3 induce la apoptosis de células de cáncer a través de la modulación de los receptores de proliferación de peroxisoma activados (PPARs), la familia Bcl-2, y NF- $\kappa$ B. En tercer lugar, AGPI, omega-3 disminuye la angiogénesis mediante la supresión del VEGF, y PDGF, que estimulan la proliferación celular endotelial, la migración y la formación del tubo y por la inhibición de las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs), a través de la producción de NO, y señalización celular de NF- $\kappa$ B y  $\beta$ -catenina<sup>(20)</sup>.

Este estudio presenta algunas limitaciones que deben ser consideradas al interpretar sus resultados. En primer lugar, se utilizó una muestra limitada de 36 huevos de *Gallus gallus domesticus*, lo cual puede reducir la potencia estadística y limitar la generalización de los hallazgos. Además, se obtuvieron las semillas de *Salvia hispánica* de una única ciudad de la costa norte del Perú, lo que podría afectar la representatividad de la composición química del aceite de chía en otras regiones. Finalmente, el uso de cloroformo como solvente en el proceso de extracción podría generar efectos residuales no identificados que podrían influir en los resultados del estudio. Así pues, futuras investigaciones con diseños metodológicos más robustos, muestras más amplias y diversas, así como evaluaciones de toxicidad, serán necesarias para confirmar y ampliar los hallazgos de este estudio.

En conclusión, el aceite de *Salvia hispánica*, a las concentraciones 27,81 mg/mL, 55,62 mg/mL y 83,43 mg/mL, presentan efecto antiangiogénico sobre la membrana corioalantoidea de *Gallus gallus domesticus*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Martínez-Ezquerro JD. VEGF/VEGFRs como Blancos Terapéuticos en el Tratamiento Contra el Cáncer. *Cancerología*. 2006;83–96.
- De Miguel Madurga R. El ácido 2,5-DHBS inhibe la inflamación y la angiogénesis inducida por el FGF. Estudio observacional en pacientes afectados de psoriasis. Universidad de Alcalá; 2010. Disponible en: <https://ebuah.uah.es/dspace/handle/10017/9556>
- Pinto J, Zaharia M, Gómez H. Angiogénesis: Desde la biología hasta la terapia blanco dirigida. *Carcinos*. 2015;5(2):61–70.
- Jiménez-Andrade GY, González-Espinosa C. Inflamación y angiogénesis: el papel facilitador de las células cebadas en el desarrollo del melanoma. *El Resid* [Internet]. 2011;6(2):111–9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=30730>
- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971;285(21):1182–6. doi:10.1056/NEJM197111182852108
- Pàez Ribes M. La resistencia adaptativa a terapias antiangiogénicas en un modelo murino de cáncer [Ph.D. Thesis]. TDX (Tesis Doctorals en Xarxa). Universitat de Barcelona; 2011. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/37912>
- Mauriz JL, Linares P, González P, Culebras JM. Tratamiento antiangiogénico del cáncer. *Cir Esp* [Internet]. 2005 [citado el 24 de marzo de 2023];78(1):3–11. doi:10.1016/S0009-739X(05)70877-0
- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2013 [citado el 7 de febrero de 2023]. 75

- p. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/95008>
9. Di Sapio O, Bueno M, Busilacchi H, Severin C. Chía: importante antioxidante vegetal. 2008; Disponible en: <http://rehip.unr.edu.ar/xmlui/handle/2133/1249>
10. Zihlif M, Afifi F, Abu-Dahab R, Abdul Majid AMS, Somrain H, Saleh MM, et al. The antiangiogenic activities of ethanolic crude extracts of four *Salvia* species. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2013 [citado el 29 de marzo de 2023];13:358. doi:10.1186/1472-6882-13-358
11. Ayerza R. Antioxidants, protein, oil content and fatty acids profiles of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) genotype Tzotzol growing in three tropical ecosystems of Bolivia, Ecuador and Paraguay. Int J Agric Environ Food Sci [Internet]. 2019 [citado el 24 de marzo de 2023];3(3):191–6. doi:10.31015/jaefs.2019.3.11
12. Lafont JJ, Páez MS, Portacio AA. Extracción y Caracterización Fisicoquímica del Aceite de la Semilla (Almendra) del Maraño (Anacardium occidentale L). Inf Tecnológica [Internet]. 2011 [citado el 24 de marzo de 2023];22(1):51–8. doi:10.4067/S0718-07642011000100007
13. Deryugina EI, Quigley JP. Chapter 2. Chick embryo chorioallantoic membrane models to quantify angiogenesis induced by inflammatory and tumor cells or purified effector molecules. Methods Enzymol. 2008;444:21–41. doi:10.1016/S0076-6879(08)02802-4
14. Loidi Castillo A, Gil García J. Estudio de los vasos extraembrionarios en el embrión de pollo (*Gallus gallus domesticus*). Zaragoza: Universidad de Zaragoza; 2012.
15. Karahan O, Yavuz C, Demirtas S, Caliskan A, Atahan E. The Investigation of the Antiangiogenic Potential of Amiodarone HCl in the Chick Embryo Chorioallantoic Membrane Model. Biomed Res [Internet]. 2013 [citado el 24 de marzo de 2023];24(1). Disponible en: <https://www.alliedacademies.org/abstract/the-investigation-of-the-antiangiogenic-potential-of-amiodarone-hcl-in-the-chick-embryo-chorioallantoic-membrane-model-1077.html>
16. Cardozo de Martínez CA, de Osorio AM. Ética en investigación con animales: Una actitud responsable y respetuosa del investigador con rigor y calidad científica. Rev Latinoam Bioét [Internet]. 2008 [citado el 24 de marzo de 2023];8(2):46–71. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1657-47022008000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1657-47022008000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
17. Lim K, Han C, Dai Y, Shen M, Wu T. Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit hepatocellular carcinoma cell growth through blocking beta-catenin and cyclooxygenase-2. Mol Cancer Ther. 2009;8(11):3046–55. doi:10.1158/1535-7163.MCT-09-0551
18. Hall MN, Chavarro JE, Lee I-M, Willett WC, Ma J. A 22-year Prospective Study of Fish, n-3 Fatty Acid Intake, and Colorectal Cancer Risk in Men. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol [Internet]. 2008 [citado el 24 de marzo de 2023];17(5):1136–43. doi:10.1158/1055-9965.EPI-07-2803
19. Cockbain AJ, Toogood GJ, Hull MA. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer. Gut. 2012;61(1):135–49. doi:10.1136/gut.2010.233718
20. Stephenson JA, Al-Taani O, Arshad A, Morgan B, Metcalfe MS, Dennison AR. The multifaceted effects of omega-3 polyunsaturated Fatty acids on the hallmarks of cancer. J Lipids. 2013;2013:261247. doi:10.1155/2013/261247