



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

EFFECTO CICATRIZANTE DE LA CREMA CON EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.)
Endl “TIC TIC QUILLUR” SOBRE LESIONES DÉRMICAS
INDUCIDAS EN RATONES

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO – FARMACÉUTICO

Presentado por:

Br. Eva Elizabeth Morante Medrano

Asesora:

Dra. Juana Elvira Chávez Flores

LIMA - PERÚ

2014

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mis padres, mi mayor fortaleza, por apoyarme incondicionalmente y creer siempre en mí.

Y a mis hermanos, para que siempre tengan presente que todos los sueños se pueden alcanzar

Eva

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la hermosa vida que me permite vivir.

A mi madre Mirtha Luz, con quien comparto la pasión y el amor de esta maravillosa profesión que me acompañará hasta el último de mis días.

A mi padre Víctor Raúl, quien sin duda alguna ha sido mi inspiración y guía a lo largo de este trayecto y compendioso ascenso como profesional.

A mis hermanos Alejandro, Mirtha y Fiorella, por cada momento compartido, han hecho sin duda alguna cada uno de mis días aún más bellos.

A mi asesora, no solo por la paciencia y sabiduría entregada en esta travesía, sino por cada gesto de amistad entrañable en las sesiones de trabajo ¡Dra. Juana Chávez Flores es usted grande!

Al Dr. Ernesto Ráez, por su orientación, apoyo total y desprendido durante el estudio anátomo – patológico, así como durante el desarrollo de esta tesis ¡Gran Maestro!

Al Mg. Carlos Cano Pérez, por su apoyo en el desarrollo de las fórmulas magistrales empleadas en la parte farmacológica de esta investigación.

A cada una de las personas entre familiares, profesores y amigos de aquí y allá que me dieron aliento para continuar hasta alcanzar esta meta y que por ser esta lista larga, prefiero que sepan al leer estas palabras que pensé en ellos cuando las escribía... ¡Sinceramente Gracias!

ABREVIATURAS

ACS	:	Grado reactivo analítico
Asintót.	:	Asintomática
°C	:	Grados centígrados
cc	:	Centímetros cúbicos
cm	:	Centímetros
EX – EtOH	:	Extracto etanólico
F	:	Frecuencia
g	:	Gramos
gl	:	Grado libertad
L	:	Litros
m.s.n.m.	:	Metros sobre el nivel del mar
m	:	Metros
mm	:	Milímetro
mg	:	Miligramo
mL	:	Mililitro
NaCl	:	Cloruro de sodio
Ph Eur	:	Farmacopea Europea
s	:	Segundo
Sig.	:	Significancia
TC	:	Círculo triangular
UI	:	Unidades internacionales
UV	:	Ultravioleta

RESUMEN

La cicatrización de heridas es un proceso complejo, diversos tratamientos se disponen en el mercado, entre ellos la aplicación de plantas medicinales, que se muestran como una alternativa económica. Las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic tic Quillur” refieren beneficios para la salud, incluyendo la cicatrización de heridas en piel. **Objetivo:** Determinar el efecto cicatrizante del extracto etanólico de las hojas “*Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”, en forma de cremas (5%, 10%, 15% y 20%) frente al extracto fluido de *Croton lecheri* L. “Sangre de Grado” (Estándar) y la crema base para preparar las formulaciones (Placebo), sobre lesiones dérmicas inducidas en ratones cepa Balb C53. **Metodología:** Se realizaron heridas de 1 cm trazada paralela a la columna lumbar en ratones de $25 \pm 1,4$ g de peso corporal, el tratamiento se aplicó durante siete días, dos veces por día, en un intervalo de doce horas. Al finalizar el tratamiento, los animales fueron sacrificados para la toma de muestras de tejido cicatricial y su posterior procesamiento para el estudio anátomo - patológico. La evaluación estadística se procesó por SPSS 20,00. **Resultados:** Se comprobó el efecto cicatrizante de las cremas preparadas a diferentes concentraciones del extracto etanólico, siendo la crema al 20% la que mostró un rango mayor de cierre de la herida externamente y en la histología de la misma. **Conclusiones:** Se determinó que la crema del extracto etanólico de las hojas “*Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” al 20% tiene buena actividad cicatrizante por vía tópica, demostrándose con cortes anátomo patológicos.

Palabras clave: *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic tic Quillur”, efecto cicatrizante, lesiones dérmicas, tejido cicatricial, estudio anátomo – patológico.

SUMMARY

Wound healing is a complex process; varied treatments are available on the market, among them, the use of medical plants is shown as an economic alternative. Leafs from *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic tic Quillur” refer health benefits, including wound healing. **Objectives:** Establish the wound healing effect from the ethanolic extract of *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic tic Quillur” ’s leafs in skin creams (5%, 10%, 15% and 20%) besides *Croton lecheri* L. “Sangre de Grado” fluid extract (Standard) and the cream without the extract (Placebo), dermal injury was made on Balb C53 mices. **Methods:** wounds of 1 cm were made on the skin of the lumbar spine of mice from $25 \pm 1,4$ g of weight. The treatment was applied twice per day by seven days, range of twelve hours. At the end of the treatment, the scar tissue was taken and carried to be processed on the anatomical – pathological study. Statistical study was done on SPSS 20,00. **Results:** the wound healing effect from the creams within the ethanolic extract by different concentrations was proved, being the cream with 20% of the ethanolic extract, the one that shown a better grade of closure of the wounds and in the histological evaluation. **Conclusions:** It was determined that the cream with 20% from the ethanolic extract of the leaves from *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic tic Quillur” has a good wound healing activity topically, evidenced on the anatomical – pathological cuts.

Key words: *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic tic Quillur”, wound healing effect, dermal injury, scar tissue, anatomical – pathological study.

I. INTRODUCCIÓN

Todos los pueblos primitivos han adquirido información sobre las propiedades medicinales de gran número de plantas propias de su medio ambiente. Estos conocimientos, generalmente los han acumulado determinados individuos, sacerdotes, hechiceros, curanderos, etc., quienes los han transmitido, de generación a generación a determinados aprendices y a sus descendientes. En ocasiones, historiadores, viajeros o curanderos, han dejado útiles descripciones de plantas medicinales y su utilidad. ⁽¹⁾

La tendencia de integrar los conocimientos de la medicina tradicional con la medicina científica, sustentada en la experiencia y la observación, hace posible la validación de la acción terapéutica y el establecimiento de los usos correctos de los recursos vegetales. ⁽²⁾

No obstante, en la actualidad un gran número de plantas no se utilizan como medicamentos por diferentes razones: la comodidad que exige el mundo moderno, la existencia de sustancias más activas y específicas, muchas veces derivadas de los principios activos producidos por los vegetales, la imposibilidad para dosificar una planta de la cual se ignora la concentración de principios activos que contiene y que si se conoce se pueda aplicar con seguridad. Además, la medicina herbolaria ha caído en manos de personas sin preparación, que utilizan más la imaginación que los conocimientos, la explotación irracional sin tener en cuenta el equilibrio ecológico, entre otros. ⁽³⁾

La información científica sobre la utilidad de las plantas es sin embargo, hoy en día, muy numerosa, y el creciente número de plantas conocidas e investigadas hace que el profesional de la salud se vea cada vez más obligado a tener un conocimiento serio y objetivo sobre la utilidad real de las plantas. ⁽⁴⁾

El encargado de preparar las plantas con vista a su utilización medicinal, es el Químico - Farmacéutico, quien pobremente asume este rol a pesar de la amplitud de institutos creados en nuestro país cuyo objetivo principal es la vinculación de la medicina tradicional y la medicina académica, pero que aún nos encontramos lejos de los países de la región, que han incorporado en sus sistemas de salud

componentes como la promoción de la industria de fitofármacos (Colombia), programas de salud indígena (Ecuador), o programas de atención primaria en comunidades indígenas con la incorporación del uso de plantas medicinales (Venezuela).^{(5) (6)}

Bajo esta premisa se desarrolla el presente trabajo de investigación experimental, aportar un conocimiento a la ciencia sobre la especie *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”, como la llaman los pobladores de la zona de San Benito de Caraz, pero que es conocida en la sinonimia vulgar como “Mullaca”, la cual ha sido estudiada principalmente por sus efectos antitusígenos⁽⁷⁾, antioxidantes y proliferadora de fibroblastos⁽⁸⁾, pero que dispone de poca investigación en relación a su efecto cicatrizante en piel, abriendo de esta manera una posible alternativa, económica, que ayude de forma eficiente y rápida a la cicatrización.

1.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolló entre los meses de Febrero – Julio del 2013, en el Centro de investigación de Productos Naturales, Laboratorio de Farmacología, y el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Tendrán efecto cicatrizante las cremas con extracto etanólico de las hojas “*Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” sobre lesiones dérmicas inducidas en ratones?

1.3 OBJETIVOS:

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto cicatrizante de las cremas con extracto etanólico de las hojas *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” sobre lesiones dérmicas inducidas en ratones.

1.3.2 Objetivos específicos:

1. Preparar el extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”, recolectadas durante el mes de floración e identificadas taxonómicamente.
2. Realizar la prueba de solubilidad del extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”.
3. Reconocer a través del análisis fitoquímico la presencia de flavonoides en el extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”
4. Realizar el test de cicatrización utilizando el método de Vaisberg y Col. Modificado empleando las cremas a base del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” al 5%, 10%, 15% y 20%.
5. Evaluar los cortes anátomo - patológicos del tejido cicatricial del lomo del ratón.

1.4 HIPÓTESIS

Las cremas a base del extracto etanólico de las hojas *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” poseen efecto cicatrizante sobre lesiones dérmicas inducidas en ratones.

1.5 VARIABLES

- Independiente: extracto etanólico
- Dependiente: efecto cicatrizante

II. GENERALIDADES

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Estudios efectuados con especies de *Muehlenbeckia*

Vaisberg, A.; et al. (1997):

Evaluación de la actividad cicatrizante de plantas medicinales tradicionales seleccionadas de Perú. ⁽⁹⁾ El filtrado obtenido de la decocción de las ramas de *Muehlenbeckia tamnifolia* en agua destilada no produjo efecto en la incisión provocada en el lomo de ratón, luego de ser aplicado durante 48 horas.

Mellado, M.; Madrid, A.; Jara, C.; Espinoza, L. (2012):

Efecto antioxidante de extractos de *Muehlenbeckia hastulata* J. ⁽¹⁰⁾ La mayor actividad antioxidante se observó en los extractos etanólicos y de acetato de etilo, hallándose compuestos fenólicos, antraquinonas y flavonoides.

Fagundes, L.; et al. (2010):

Propiedades farmacológicas del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia plantyclada* (F. Muell.) Meisn. ⁽¹¹⁾ El extracto etanólico demostró poseer actividades antinociceptivas y antiinflamatorias que podrían estar relacionadas a los metabolitos secundarios hallados (flavonoides, triterpenos, saponinas y esteroides) en el análisis fitoquímico.

Erazo, S.; et al. (2002):

Constituyentes y actividades biológicas de *Muehlenbeckia hastulata*. ⁽¹²⁾ El estudio demostró que esta planta posee efecto oxiótico y antiinflamatorio, debido a los flavonoides rutina, epicatequina y emodina – 8 – glicósido identificados, presentando mayor efectividad el extracto etanólico obtenido de la raíz.

Roco, P. (2001):

Valoración del efecto hipotensor de extractos de tallos, raíz y hojas de *Muehlenbeckia hastulata*, Quilo o Voqui negro, en ratas normotensas. ⁽¹³⁾ Tanto el extracto acuoso liofilizado de tallos y de raíz, como el extracto metanólico de

hojas producen disminución significativa de la presión arterial (sistólica y diastólica) y de la frecuencia cardíaca.

2.1.2 Estudios efectuados en plantas con efecto cicatrizante

Redrobán, K. (2012):

Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcolicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantén (*Plantago major*) en ratones *Mus musculus*.⁽¹⁴⁾ El extracto hidroalcolico de Llantén y Berro proporción (50 :50 V/V) utilizado como tratamiento tardó seis días en cicatrizar las heridas provocadas en ratones.

Antón, J.; Ayala, C. (2011):

Efecto cicatrizante del extracto hidroalcolico de las hojas secas de *Cynanchum formosum* N.B.Br. "Tijeras Tijeras".⁽¹⁵⁾ Las cremas formuladas a base del extracto en diferentes proporciones presentan actividad cicatrizante.

Contreras, M. (2009):

Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto acuoso del fruto fresco de *Capsicum pubescens* R & P "Rocoto".⁽¹⁶⁾ El tratamiento local del extracto en el lomo de las ratas entre el noveno y décimo primer día cicatriza completamente, mientras que con la silverdiazina crema al 1% entre el décimo octavo y vigésimo día. Adicionalmente, no quedaron marcas de cicatriz en el lomo de las ratas tratadas con el extracto de *Capsicum pubescens* R & P.

Vásquez, G. (2009):

Estudio fitoquímico y efecto cicatrizante de la raíz de *Rumex cuneifolius* *Campdera* "Cuturruzuma".⁽¹⁷⁾ La fuerza de tensión medida en gramos de arena necesaria para abrir la incisión provocada en el lomo de los ratones fue mayor con el grupo tratado con el extracto etanólico, superando al estándar y acercándose al grupo de piel intacta.

Méndez, M.; et al. (2008):

Efecto cicatrizante de la pomada preparada con *Dorstenia drakena* L. (*Moraceae*) en heridas cutáneas.⁽¹⁸⁾ La cicatriz de los animales del grupo IV

tratados con la pomada elaborada con el rizoma de *Dorstenia drakena* L. fue menos visible respecto a los otros tratamientos.

2.2 ASPECTO BOTÁNICO

2.2.1 Características de la familia Polygonaceae y géneros Muehlenbeckia

La familia *Polygonaceae* es reconocida en el Perú por presentar diez géneros (siendo lo más estudiados *Polygonum*, *Coccoloba*, *Muehlenbeckia*, *Ruprechtia*) y setenta y tres especies. Los encontramos distribuidos entre árboles, arbustos, hierbas e incluso lianas. Los taxones endémicos se encuentran especialmente en la región Mesoandina, entre los 2,000 y 3,300 m.s.n.m. ⁽¹⁹⁾

El género *Muehlenbeckia* presenta alrededor de veinte especies, la mayoría de las cuales se distribuye en Nueva Guinea, Australia y Nueva Zelanda y nueve en América Central y del Sur. ⁽²⁰⁾

En Perú habitan ocho de las especies: *Muehlenbeckia andina*, *Muehlenbeckia fruticulosa*, *Muehlenbeckia hastulata*, *Muehlenbeckia nummularia*, *Muehlenbeckia platyclada*, *Muehlenbeckia tamnifolia*, *Muehlenbeckia tiliifolia*, y *Muehlenbeckia volcanica*. ⁽²¹⁾

La quimiotaxonomía describe la presencia de antraquinonas en la familia Poligonácea, siendo el crisofanol, la emodina, reína y los glicósidos antraquinónicos comunes en *Muehlenbeckia tamnifolia*, *Muehlenbeckia volcanica* y *Muehlenbeckia hastulata*. ^{(1), (22)}

2.2.2 Características de la especie Muehlenbeckia volcanica (Benth.) Endl

Muehlenbeckia volcanica (Benth.) Endl crece en la sierra peruana entre 1,500 a 4,500 m.s.n.m., distribuida en los departamentos de Ancash, Ayacucho, Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Junín, Lima, La Libertad, y Puno; solo se recoge en la época de lluvias durante la floración. ⁽²¹⁾

Subarbusto prostrado que forma pequeños cojines. Pecíolos 1,2 – 2,4 mm de largo; lámina 3,6 – 7,1 x 2 - 4 mm, ovada a rómbica u oblonga, punteada, verde claro, margen ligeramente revoluta, ápice agudo u obtuso, nervadura hifódroma. Inflorescencia cimosa. Tépalos 2,4 – 3,6 x 1,6 mm, ovados, verde rojizos, ápice plano. Ovario 1,2 mm de largo; estigmas fimbriados. Fruto 1,2 – 2 mm de largo.⁽²³⁾

Se le conoce vernacularmente como Mullaca en lengua aymara, laura, coca – coca o bejuquillo. Y en la sinonimia científica como *Muehlenbeckia vulcanica* Meisn.^{(24), (25)}

2.2.3 Uso tradicional

En la filosofía y medicina quechua es considerada una planta cálida, ya que suele ser utilizada para la curación de enfermedades que se clasifican como “frescas o frías”.⁽⁴⁾ Pedro Arellano Jiménez la considera antitusígeno y menciona como forma de uso tomar una taza caliente del cocimiento de la raíz, hojas y tallos al acostarse.⁽⁵⁾

Por otro lado, es una excelente planta tintórea de donde se obtiene un intenso color azul. La firmeza de este tinte natural perdura en los textiles de culturas prehispánicas como Paracas e Inca.⁽²⁶⁾

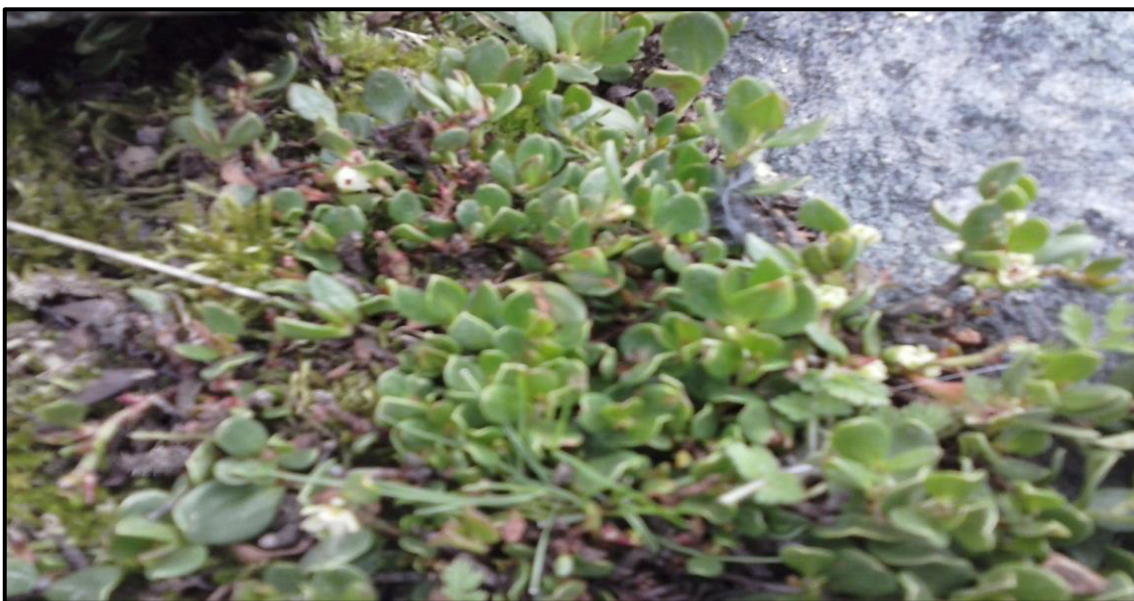


Figura 1. *Muehlenbeckia vulcanica* (Benth.) Endl

2.3 ASPECTO FARMACOLÓGICO

2.3.1 Drogas Tópicas y Cutáneas

Se denominan drogas tópicas y cutáneas aquellas que se aplican exteriormente para conseguir diferentes acciones.

1. Emolientes:

Drogas que aplicadas externamente son capaces de relajar y ablandar las partes inflamadas.

2. Astringentes:

Drogas que producen constricción, sequedad de la piel y mucosas.

3. Vulnerarias y cicatrizantes:

La droga vulneraria cura o favorece la curación de las heridas y la droga cicatrizante favorece la reparación o cicatrización de tejidos.

4. Rubefacientes:

Droga que aplicada sobre la piel produce irritación y enrojecimiento.
(27)

En general, se consideran benéficas las plantas cuyos extractos favorecen la regeneración del epitelio cuando la piel es sometida a un daño, y también aquellas que despliegan actividad antiinflamatoria y antiséptica.⁽²⁸⁾

2.3.2 Piel

2.3.2.1 Funciones

Es el órgano más grande en el humano (1,5 – 2 m²) y su integridad es fundamental para la supervivencia.

Las funciones más importantes son: barrera y protección, regulación de la temperatura, equilibrio hidrosalino y ácido – base, producción de melanina, función inmunológica, reparación de heridas e identificación personal.⁽²⁹⁾

2.3.2.2 Composición

a. Epidermis:

Constituye el 5% del espesor de la piel y mide 0,04 – 1,5 mm (mayor en palmas y plantas).

Está formada por un epitelio escamoso estratificado con las siguientes capas de afuera hacia adentro: córnea, lúcida, granulosa, espinosa y basal. ⁽²⁹⁾

Las células de la capa basal se reproducen constantemente y durante su envejecimiento se desplazan hacia la superficie, en donde se depositan y gracias a un proceso de transformación gradual cambian de células redondas y nucleadas en escamas planas y ricas en queratina, que se encuentran en las capas externas de la epidermis, las cuales están desvitalizadas. ⁽³⁰⁾

b. Dermis:

Constituye el 95% del espesor total de la piel. ⁽²⁹⁾ Está conformada por fibras de colágeno y elastina en una matriz de mucopolisacáridos, irrigadas por una rica trama vascular y sostiene la epidermis; la elastina le aporta elasticidad y el colágeno su fuerza tensil.

El grosor y por tanto su tensión, varían según la zona corporal.

En la unión de la dermis y la epidermis se forma una serie de ondas llamadas pedículos radiculares o papilas. ⁽³⁰⁾

c. Celular subcutáneo:

Bajo la dermis se encuentra el tejido hipodérmico de sostén, o tejido graso subcutáneo, compuesta por adipositos separados por tabiques fibrosos. ^{(29) (30)}

d. Anexos cutáneos:

Se originan de la epidermis y están contenidos en la dermis. Son los siguientes elementos:

- Complejo pilosebáceo,
- Glándulas apócrinas,
- Glándulas ecrinas (o sudoríparas) y
- Uñas.

e. Riego sanguíneo e inervación:

Las arterias subcutáneas forman una red en el tejido subcutáneo, de la cual se deriva un plexo subpapilar que hay en la dermis.

Las asas capilares de las papilas dérmicas se originan del plexo subpapilar, y a partir de ellas la epidermis se baña en líquido tisular. La dermis contiene un plexo linfático que drena en los vasos colectores del tejido subcutáneo. Además, los nervios cutáneos perforan la fascia y se ramifican en el tejido subcutáneo para formar plexos en él y en la dermis. ⁽³¹⁾

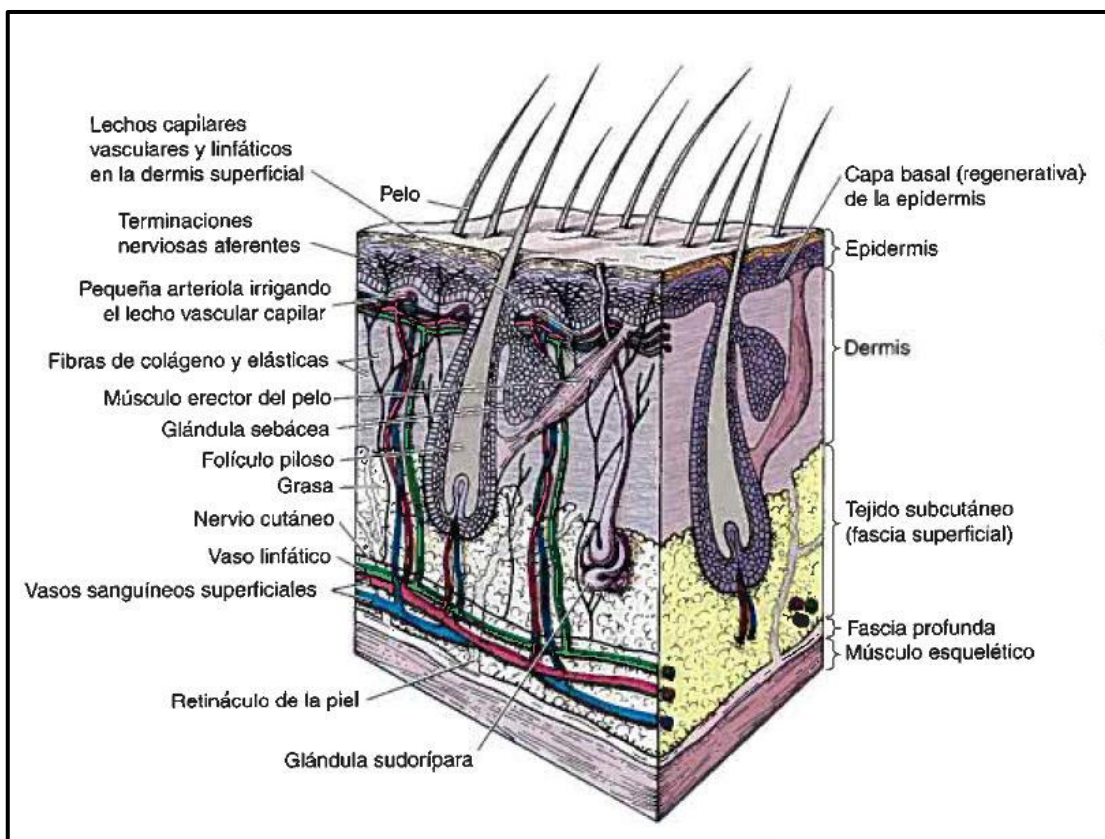


Figura 2. Esquema de la piel y de sus anejos. ⁽³²⁾

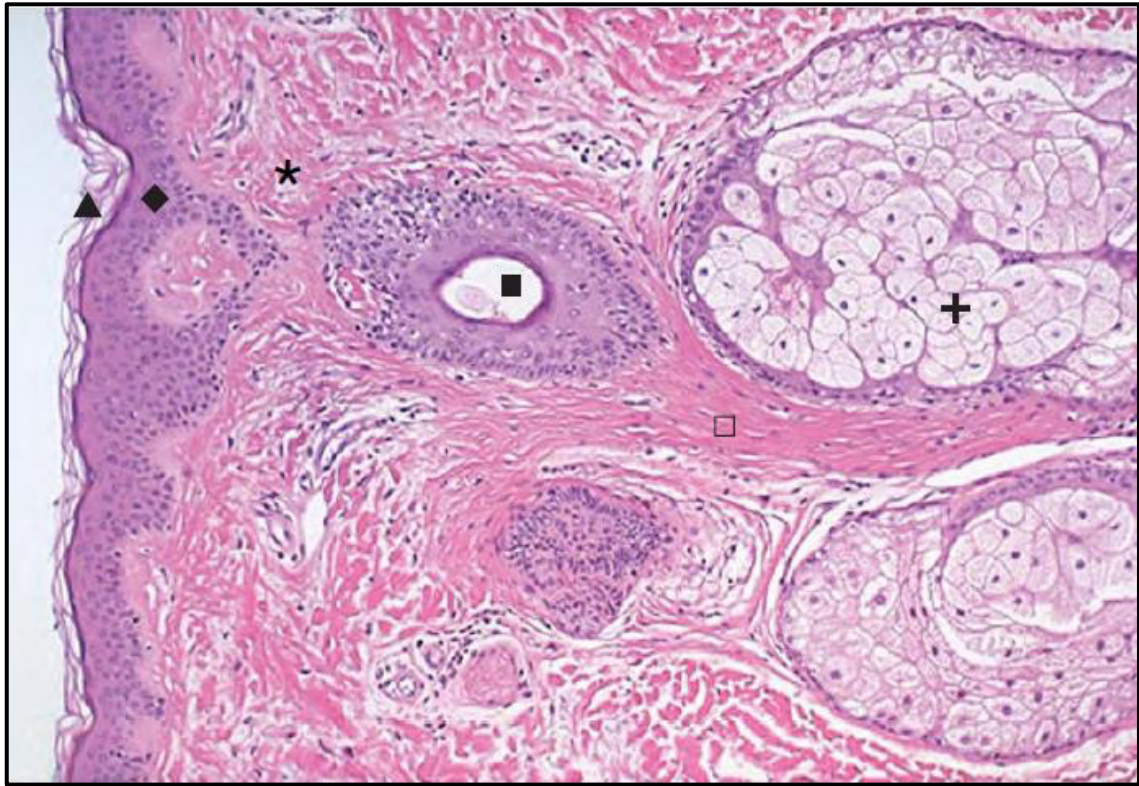


Figura 3. Piel normal, vista microscópica. ⁽³³⁾

En la figura 3. Se observa el aspecto histológico de la piel normal. A la izquierda está la epidermis. Una fina capa de queratina (▲) recubre la epidermis. Esta capa queratinizada es más gruesa en las palmas de las manos y las plantas de los pies y en las áreas de la superficie corporal sometidas a roce e irritación persistentes. Bajo la epidermis (◆) se halla la dermis (*), que contiene tejido conectivo con colágeno y fibras elásticas. En el centro puede verse un folículo piloso (■) con glándulas sebáceas circundantes (+). Asociado al folículo piloso hay un pequeño haz de músculo liso (□) conocido como *erector del pelo*, cuya contracción hace que los pelos se pongan de punta y, en los ambientes fríos, provoca la “carne de gallina”.

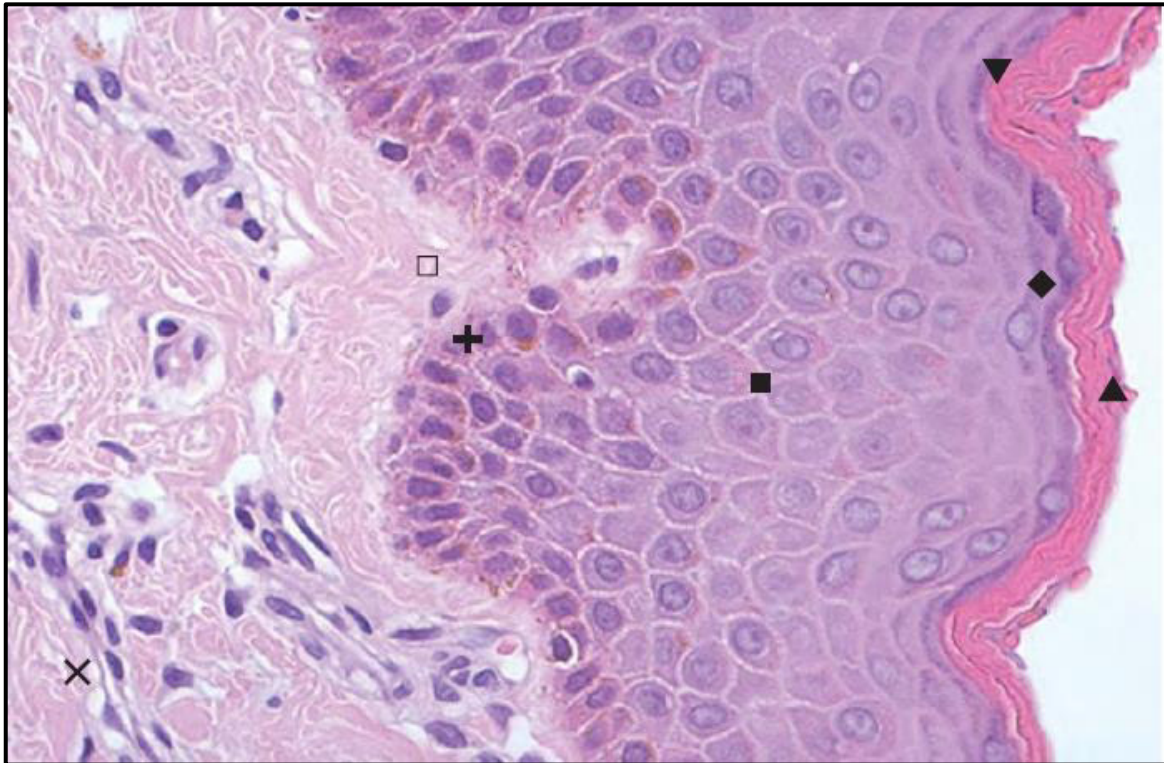


Figura 4. Epidermis, vista microscópica. ⁽³³⁾

En la figura 4. Se observa una muestra de piel cubierta por una capa de queratina acelular llamada estrato córneo (▲), que continuamente se descama. Bajo esta capa se halla el estrato lúcido (▼), más oscuro y delgado. La capa más externa de células epidérmicas tiene gránulos citoplasmáticos prominentes de color violeta y se denomina estrato granuloso (◆). A continuación se sitúa la capa más gruesa, el estrato espinoso (■), con células poliédricas que tienen puentes intercelulares prominentes. La capa de células basales (+) descansa sobre la membrana basal. En este caso hay pigmentación melánica prominente, de color marrón, en la zona basal. La dermis papilar superficial (□) tiene pequeños vasos capilares (x), que desempeñan un papel en la regulación de la temperatura.

2.3.3 Herida

Una herida es la consecuencia de una agresión, que da como resultado una solución de continuidad en los tejidos.

Según la profundidad alcanzada en los mismos se clasifican en:

1. Superficial:

Sólo está afectada la epidermis (erosión) y se resuelve sin dejar cicatriz. La restitución es *Ad integrum*. Ej.: erosión por fricción, excoriación.

2. De espesor parcial:

Afecta la epidermis y la dermis superficial respetando los anexos cutáneos. Al involucrar la membrana basal, deja cicatriz. Ej.: zona dadora, quemaduras intermedias.

3. De espesor completo:

Involucra la epidermis, dermis profunda y/o hipodermis. No existen anexos cutáneos remanentes y a veces compromete tejidos más profundos como músculo, tendón, cápsula articular y hueso. Repara siempre con cicatriz. Ej.: herida quirúrgica, úlceras arteriales, úlceras por presión estadios III y IV. ⁽³⁴⁾

Según el proceso de reparación que sigue, existen dos tipos:

a. Herida Aguda:

Herida que sigue un proceso de reparación ordenado que restaura la integridad anatómica y funcional. ⁽²⁹⁾

b. Herida Crónica:

Son aquellas que se han detenido en la fase inflamatoria ⁽³⁴⁾, requieren para su cicatrización de períodos muy prolongados de tiempo, en un complejo proceso que elimina y reemplaza el tejido dañado. ⁽³⁵⁾

2.3.4 Tipos de cicatrización

Existen dos grandes tipos de cicatrización:

1. Cicatrización por primera intención:

Heridas en las que se aproximan los bordes mediante alguna técnica de sutura o fijación.

2. Cicatrización por segunda intención:

Heridas profundas en las que la pérdida de tejido es demasiado grande para aproximar los bordes.

Las heridas crónicas se diferencian de las heridas agudas, quirúrgicas, traumáticas, porque estas últimas cicatrizan por primera intención, mediante la superposición de planos, en un período comprendido entre los 7 y los 14 días. Las heridas crónicas van a cicatrizar por segunda intención.

Algunas heridas agudas pueden cronificarse, es el caso de complicaciones como la dehiscencia de suturas, heridas que fistulizan o bien heridas con evolución tórpida. ⁽³⁵⁾

2.3.5 Proceso de Cicatrización

Independientemente del tipo de herida de que se trate y de la extensión que abarque la pérdida de tejido, la curación de las heridas discurre en fases que se solapan en el tiempo y no pueden ser separadas entre sí, pero es necesario hacerlo teóricamente para facilitar su explicación.

El proceso de cicatrización es un conjunto de fenómenos fisiológicos, mediante los cuales, el cuerpo reemplaza los tejidos destruidos por otros de nueva formación, así como su funcionalidad. ⁽³⁵⁾

1) Inflamatoria

- Duración: 0 a 4 días en cierre 1°, se prolonga en cierre 2° y 3°.
- Respuesta vascular: vasoconstricción inicial y luego, vasodilatación y aumento de la permeabilidad (control de hemorragia inicial y luego estimula la migración celular).

- Respuesta hemostática: agregación plaquetaria y activación de la cascada de coagulación (control de la hemorragia).
- Respuesta celular: primero PMNs y luego mononucleares (macrófagos y linfocitos). Limpieza de la herida.
- Traducción clínica: rubor, tumor, calor, dolor.
- Mientras más prolongada esta fase, más cicatriz se obtiene y de peor calidad.
- Al final de esta fase se recupera el 10% de la fuerza tensil.

2) Fibroblástica (proliferativa)

- Duración 5 a 40 días.
- Reparación de tejido conectivo (síntesis de colágeno y matriz extracelular por fibroblastos).
- Angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos).
- Epitelización (migración celular desde bordes de la herida).
- Reparación de tejidos especiales (hueso, cerebro).
- Contracción: aproximación de bordes por miofibroblastos, ocurre a lo largo de la herida y no, a lo ancho. Es más intensa en cicatrizaciones secundarias y en heridas infectadas.
- Contractura: contracción excesiva sobre una articulación.
- Al final de esta fase se recupera el 60% de la fuerza tensil.

3) Maduración (remodelación)

- 40 días hasta varios años, evolución variable (promedio 6 meses en adultos y más en niños).
- Se ordena el colágeno (síntesis = degradación). Desaparecen los capilares, el colágeno se engruesa y se van los fibroblastos (cicatriz acelular), disminuyen los glicosaminoglicanos y el contenido de agua.
- Traducción clínica: la cicatriz se ablanda y aplanada, desaparece el eritema y el prurito (cicatriz madura).
- Se recupera hasta el 80% de la fuerza tensil (nunca se llega al 100%).⁽²⁹⁾

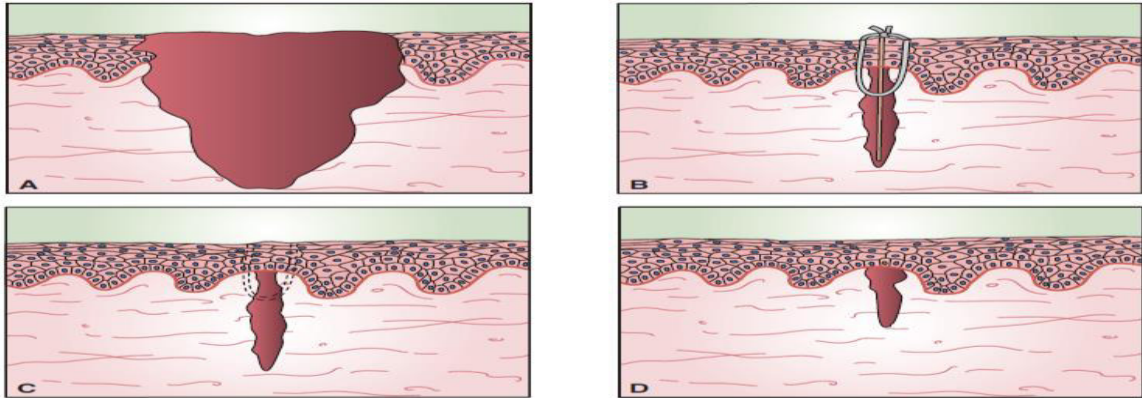


Figura 5. Cicatrización por primera intención. ⁽³⁶⁾

(A) Apertura inicial, herida incisa. (B) Bordes de la herida estrechas se sostienen entre ellas unidas con una sutura y mínima pérdida de tejido. (C) Hay disminución del tejido de granulación. Como una herida requiere solo del mínimo de proliferación y neovascularización para cicatrizar. (D) El resultado es una estrecha y lineal cicatriz.

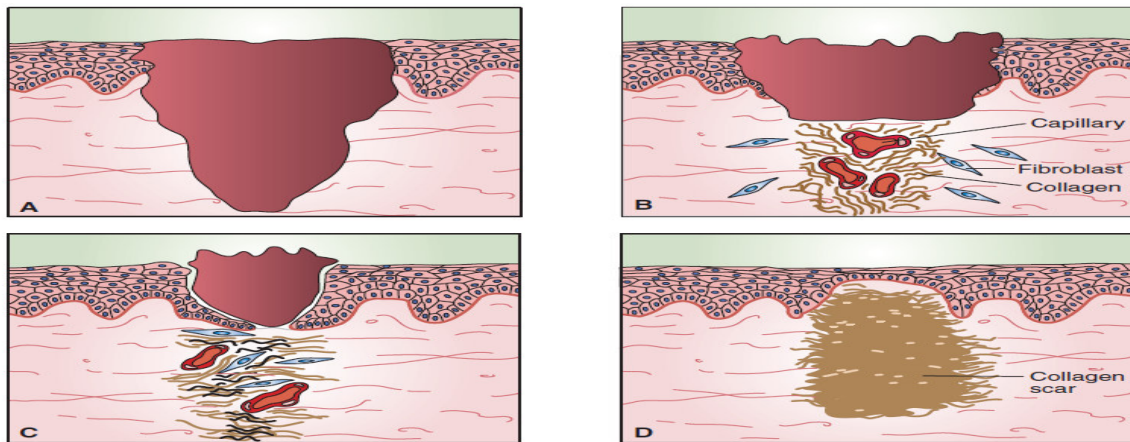


Figura 6. Cicatrización por segunda intención. ⁽³⁶⁾

(A) Una herida abierta se deja sanar, donde hay pérdida de tejido y los bordes están alejados. (B) el proceso de cicatrización requiere de la contracción de la herida, proliferación celular extensa, acumulación de la matriz y neovascularización (tejido de granulación) para sanar. (C) La herida es reepitelizada desde los bordes, y las fibras de colágeno son depositadas a través del tejido de granulación. (D) El Tejido de granulación es eventualmente reabsorbido, dejando una larga cicatriz de colágeno funcionalmente y estéticamente imperfecta.

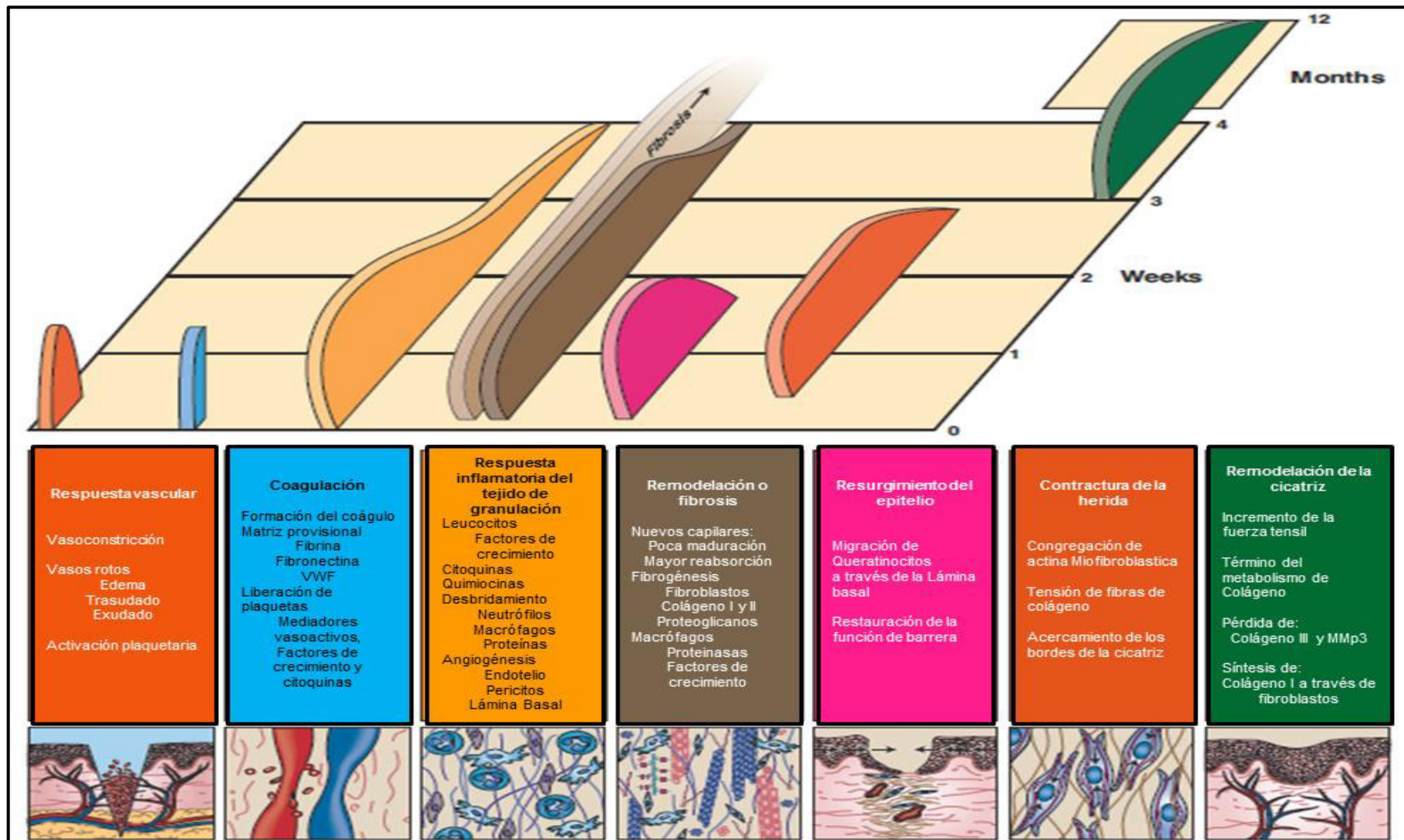


Figura 7. Las fases secuenciales del proceso de cicatrización. (36)

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIALES, EQUIPOS, SOLVENTES Y REACTIVOS

3.1.1 Del estudio botánico

Especie *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”, planta completa y fresca.

3.1.2 Del estudio químico

Material biológico

Extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”

Material de vidrio

10 Pipetas graduadas, Silberbrand Eterna, B, tipo 2, 5: 0,05 mL.

01 Vaso de beacker Brand, forma baja, Boro 3,3 1,000 mL, con graduación y pico

36 Tubos de ensayo Kimax, 12 mm

01 Varilla de vidrio Kimax

01 Bandeja de vidrio rectangular Pyrex, 1 L

09 Embudos de vidrio Kimax

Material de plástico

01 Caja de guantes de látex para examen Family Doctor, talla S

01 Gradilla de plástico Inserbo para 60 tubos, hasta 16 mm

02 pliegos de papel filtro MN 616, 85 g/m², 0,2 mm, 27s

02 pliegos de papel filtro MN 619, 85 g/m², 0,17 mm, 140s

Material de acero

09 Aros metálicos de laboratorio Marca "Haldenwanger"

03 soportes universal Marca "Haldenwanger"

Solventes

Etanol al 70% x 1 L Difen Laboratorios, Acetona, Acetato de etilo, Agua destilada, Benceno, Butanol, Cloroformo, Éter Etilico, Éter de petróleo, Metanol y n – hexano para análisis Emsure® ACS, Reag. Ph Eur.

Reactivos

Dragendorff, Mayer, Popoff, Tricloruro de aluminio, Wagner, Salkowski, Sonneschein, Liebermann – Burchard, Tricloruro férrico, Shinoda, Gelatina – NaOH

Equipos

Balanza Ohaus, Molino manual Corona, Estufa Memmert

3.1.3 Del Estudio Farmacológico

Material biológico

36 Ratones albinos de ambos sexos, cepa Balb C53, de 2 meses de edad, 25 + 1,4 g de peso, del Bioterio del Instituto Nacional de Salud, sede Chorrillos

Materiales para la preparación de las cremas

L70, alcohol cetosteárico, cera de abeja, vaselina líquida, sorbitol, agua destilada

Material de plástico

10 Jeringas desechables 1cc 27g x 1/2 Insulina (UI), Becton Dickinson

01 plancha de tecnopor, 20 x 50 cm

36 Frascos de recolección de muestra en condición estéril, 40 mL

Material de acero

01 caja de alfileres por 100 unidades, Hand, 26 mm

Estuche de disección de acero inoxidable, Medical Technologies, 13 piezas.

Otros materiales

Formol al 37- 40% x 500 mL, IBC; Seda negra 3/0 TC – 15, Seda Silk, 90 cm, Crema depilatoria “Touch me”, Halatal 6,5g/100 mL, frasco x 100 mL y Gasa estéril.

3.2 METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO

3.2.1 Del Estudio Botánico

La especie completa en su estado de floración fue seleccionada para su clasificación taxonómica, en el Museo de Historia Natural “Javier Prado”, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.2.2 Del Estudio Químico

3.2.2.1 De la recolección, secado, molienda y extracción de metabolitos secundarios

La especie *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl se recolectó en la localidad de San Benito de Caraz (Provincia de Oyón – Lima) a 3,600 m.s.n.m, en el mes de Noviembre de 2012.

Las hojas seleccionadas fueron sometidas a una limpieza previa, deshidratadas al estado natural bajo sombra y luego, utilizando una estufa a 37 °C por espacio de 48 horas. Se realizó la molienda y el polvo obtenido se almacenó en un frasco de boca ancha para su posterior uso.

Se pesó el polvo de las hojas y se maceró con 4 litros de alcohol de 70° en frascos de boca ancha, protegiéndolos de la luz y calor, bajo agitación constante durante 7 días.

Consecutivamente, se procedió al filtrado hasta obtener una solución clara y libre de residuos, se evaporó a sequedad en estufa a 37 °C hasta obtener el extracto seco.

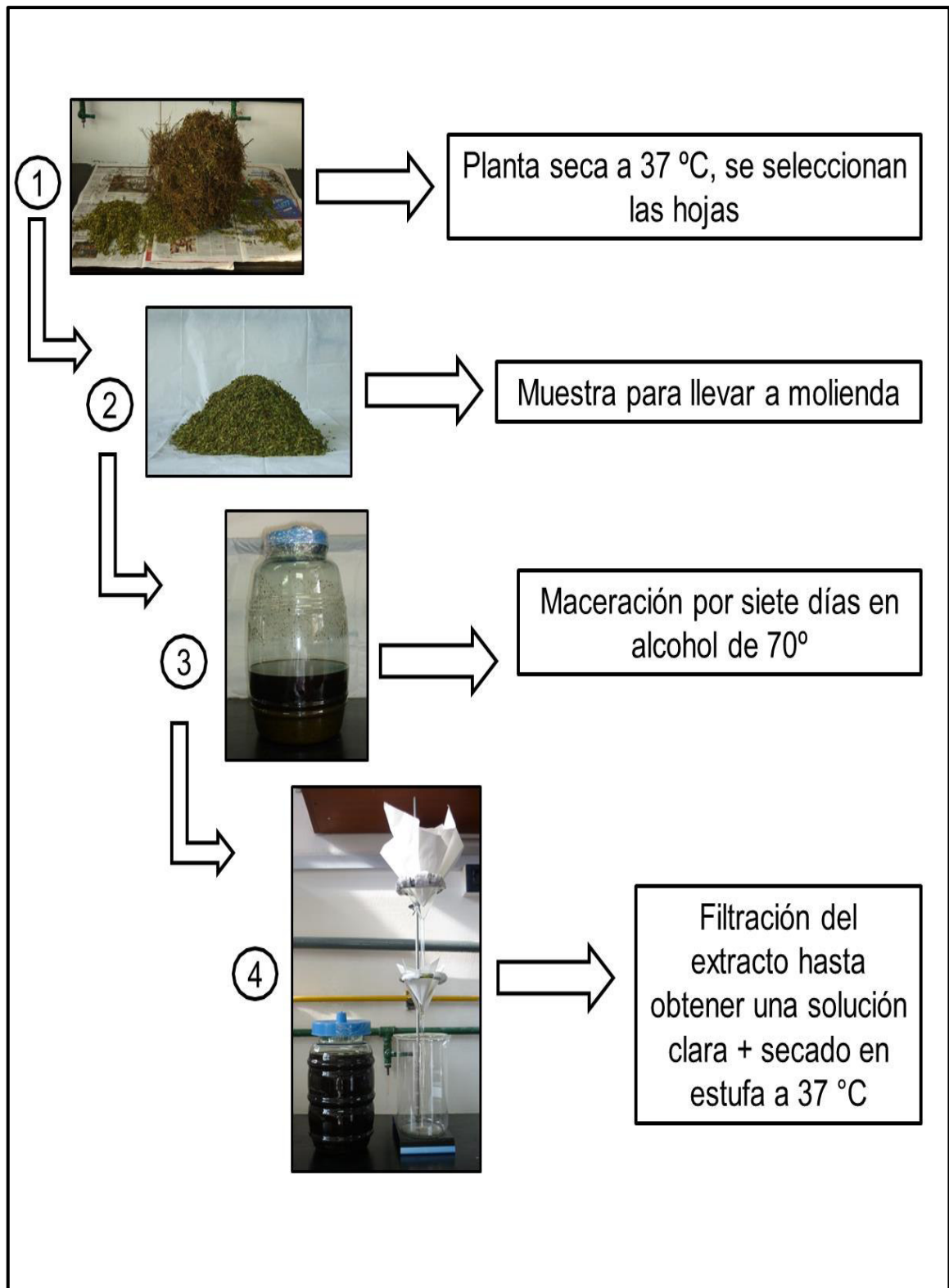


Figura 8. Preparación del EX - EtOH de las hojas *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl "Tic Tic Quillur".

3.2.2.2 De la prueba de solubilidad

En siete tubos de ensayo se colocó una pequeña porción del extracto seco y se le agregó a cada uno de ellos 1 mL de solventes de polaridad creciente: Agua destilada, Metanol, Etanol, Butanol, Acetato de etilo, n – hexano, Cloroformo, Acetona, Benceno, Éter de petróleo y Éter Etilico.

Se agitó cada tubo de ensayo, se observó y se anotaron los resultados.

3.2.2.3 Del Análisis Fitoquímico

El análisis fitoquímico del extracto etanólico se realizó a través de reacciones químicas de coloración y precipitación.

El extracto seco se solubilizó en etanol y se distribuyó en 12 tubos de ensayo para realizar la identificación de los siguientes metabolitos: alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos, esteroides y/o triterpenos, y taninos. Como son:

A. Reactivo de Dragendorff

Se colocó 0,5 mL de extracto diluido y se agregó III gotas de reactivo Dragendorff, preparado según la técnica de Olga Lock. La reacción es positiva para alcaloides si se observa un precipitado de color anaranjado. ⁽³⁷⁾

B. Reactivo de Mayer

Se colocó 0,5 mL de extracto diluido y se agregó III gotas de reactivo Mayer, preparado según la técnica de Olga Lock. La reacción es positiva para alcaloides si se observa un precipitado color blanco a crema. ⁽³⁷⁾

C. Reactivo de Wagner

Se colocó 0,5 mL de extracto diluido y se agregó III gotas de reactivo Wagner, preparado según la técnica de Olga Lock. La reacción es positiva para alcaloides si se observa un precipitado de color marrón. ⁽³⁷⁾

D. Reactivo de Sonneschein

Se colocó 0,5 mL de extracto diluido y se agregó III gotas de reactivo Sonneschein, preparado según la técnica de Olga Lock. La reacción es positiva para alcaloides si se observa un precipitado de color amarillo verdoso. ⁽³⁸⁾

E. Reactivo de Popoff

Se colocó 0,5 mL de extracto diluido y se agregó III gotas de reactivo Popoff. Se esperó 5 minutos para observar la aparición de precipitado color amarillo, que indica presencia de alcaloides.

F. Reactivo de Tricloruro de aluminio

Se colocó 0,5 mL de extracto diluido y se agregó III gotas de reactivo tricloruro de aluminio. Se esperó 5 minutos y se observó en la lámpara UV, observándose un halo amarillo, evidenciando la presencia de flavonoides. ⁽³⁷⁾

G. Reactivo de Tricloruro férrico

Se colocó 0,5 mL de extracto diluido y se agregó III gotas de reactivo tricloruro férrico. Coloraciones azul – verdosa para flavonoides y compuestos afines. Al tratar los taninos hidrolizables con tricloruro férrico aparece una coloración azul; los taninos condensados, dan coloración verde. ⁽²⁷⁾

H. Reacción de Shinoda

A una solución alcohólica del material vegetal se agregó un pequeño trozo de granalla de magnesio seguido por gotas de ácido clorhídrico Q.P. Las coloraciones roja (flavonas), roja a crimson (flavonoles), crimson a magenta (flavononas) y algunas veces azul o verde, son consideradas positivas. ⁽³⁷⁾

I. Reacción de Liebermann – Burchard

En un tubo de ensayo se introduce la muestra y se agregan gotas de ácido acético glacial, más 3 mL de anhídrido acético y ácido

sulfúrico Q.P. (50 :1 V/V). Las saponinas dan color rosado o púrpura mientras las esteroidales dan azul – verdoso. ⁽³⁷⁾

J. Reacción de Salkowski

En un tubo de ensayo se introducen 2 mg de sustancia y 1 mL de cloroformo; luego se añade 1 mL de ácido sulfúrico Q. P. La reacción es positiva para esteroides si se observa la formación de un color rojo o amarillo. ⁽³⁸⁾

K. Reacción de Gelatina – NaOH

A una solución de NaCl al 5% se agrega una porción del extracto etanólico de hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl; a una segunda porción se le agrega una solución de gelatina al 1% y a una tercera el reactivo de gelatina – sal. La precipitación con este último reactivo, o con ambos el 2° y el 3°, es indicativo de la presencia de taninos. Si solamente ocurre con el 1°, el test es falso. ⁽³⁷⁾

L. Prueba de espuma

Con el material pulverizado se prepara un extracto acuoso al 1%, se filtra y el filtrado se agita vigorosamente por 30 segundos. La prueba es positiva para saponinas si se observa la formación de espuma la cual es persistente por 30 minutos. ⁽³⁷⁾

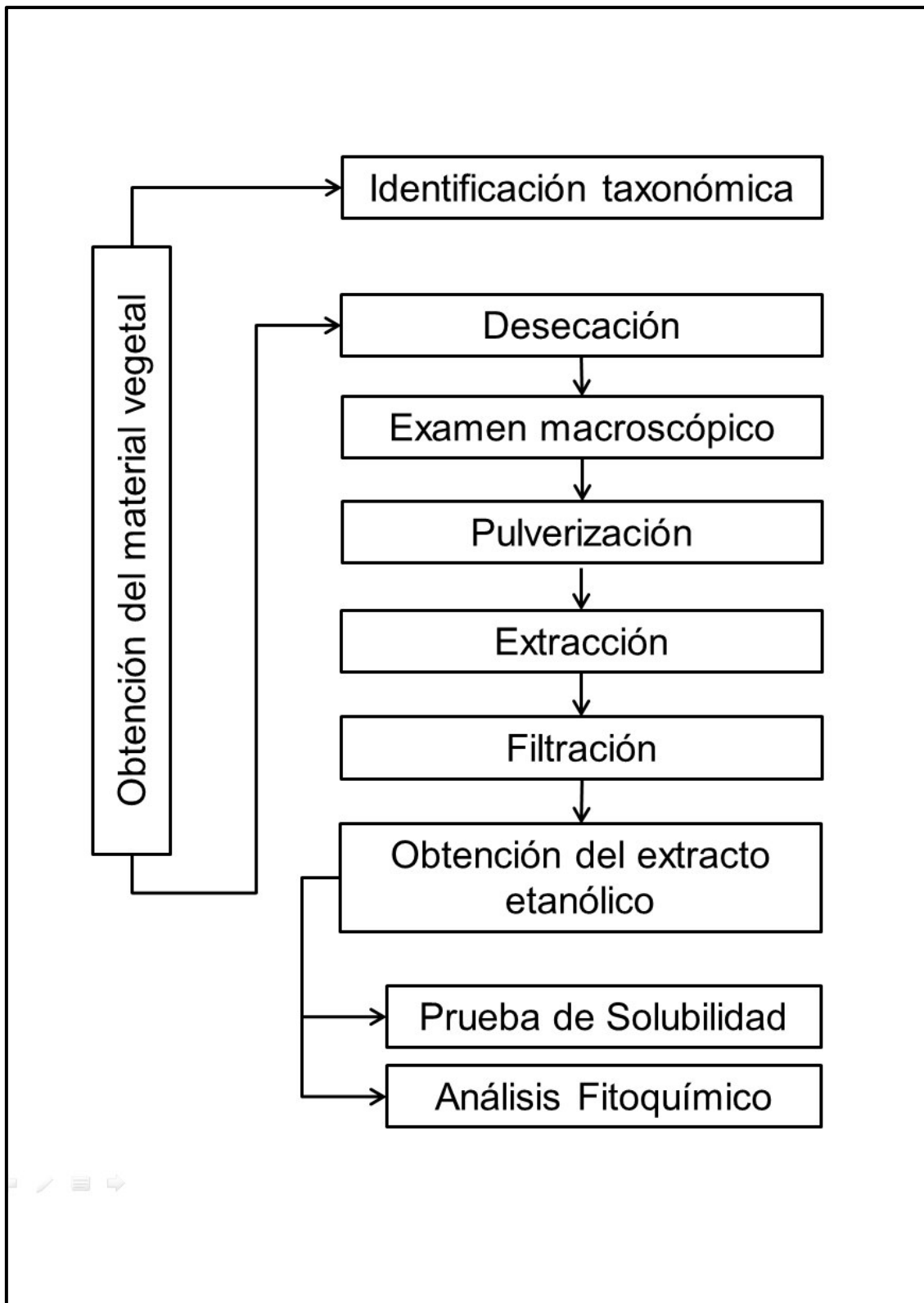


Figura 9. Estudio Botánico y Análisis Fitoquímico.

humedecida y sin presionar se retiró la crema. Al finalizar se secó los restos de humedad con algodón. Se esperó 24 horas y se les practicó una incisión en el lomo de 1 cm de longitud paralelo a la columna lumbar, se suturó los bordes de la herida con un punto de nudo triple, y de forma continua se aplicó la primera dosis de tratamiento según el grupo al que pertenecían.

Durante 7 días y cada 12 horas se aplicó 0,1 mL de crema en la incisión, empleando una jeringa de tuberculina.

Transcurrido este tiempo, se sacrificó los ratones con una sobre dosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal. Inmediatamente, se retiró los puntos de sutura, para extraer un área de 2 cm de la piel cicatrizada, la que se extendió en una pieza de tecnopor sujetándola con alfileres, para luego colocarla en solución de formaldehído al 10%.

Tabla 1. Grupos de estudio del tratamiento con cremas en diferentes concentraciones del EX - EtOH de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl

	Grupo	Descripción
1	Control	Crema base
2	Estándar	<i>Croton lechleri</i> L. (Sangre de grado)
3	Crema 5%	Crema base + EX – EtOH 5%
4	Crema 10%	Crema base + EX – EtOH 10%
5	Crema 15%	Crema base + EX – EtOH 15%
6	Crema 20%	Crema base + EX – EtOH 20%

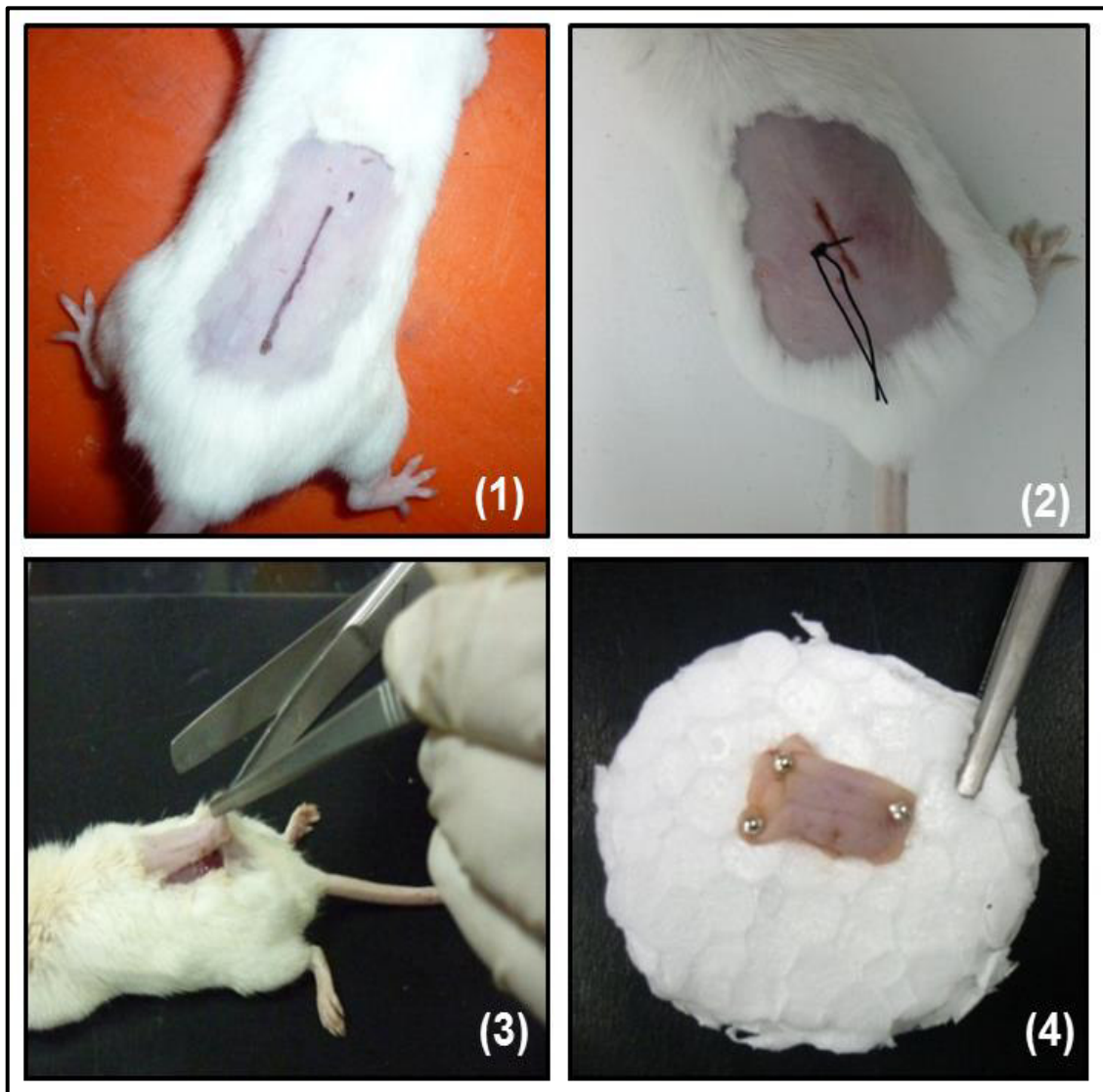


Figura 10. Estudio Farmacológico: Test de cicatrización

(1) Línea de 1 cm trazada paralela a la columna lumbar para la incisión, en el animal de experimentación, ratón. (2) Lomo de ratón con sutura 3/0 TC – 15. (3) Extracción del tejido cicatricial. (4) Muestra del tejido cicatricial antes de colocarlo a solución de formaldehído al 10 %.

3.2.3.3 Del Estudio anátomo - patológico

Los frascos obtenidos por cada grupo de trabajo se rotularon con números arábigos (del 1 al 36), se llevaron al Instituto de Patología – sede Hospital Loayza, para que el médico patólogo procese el tejido y realice las lecturas respectivas. Tomándose en cuenta que el médico patólogo no debe conocer el grupo al que pertenece la muestra y realizar una lectura objetiva.

Las imágenes fueron capturadas con una cámara Lumix Panasonic DMC – FH2. Los parámetros evaluados fueron reepitelización, presencia de células inflamatorias infiltradas, proliferación de fibroblastos, neovascularización y depósito de colágeno. ⁽³⁹⁾ Donde 0, indica ausencia; 1, indica incipiente o presencia ocasional; 2, indica delgado o disperso; 3, indica abundante; 4, indica confluencia de células.

3.2.3.4 Del Análisis Estadístico

Los resultados fueron procesados en el programa estadístico SPSS versión 20,00 a través de las pruebas de ANOVA y Kolmogorov – Smirnov.

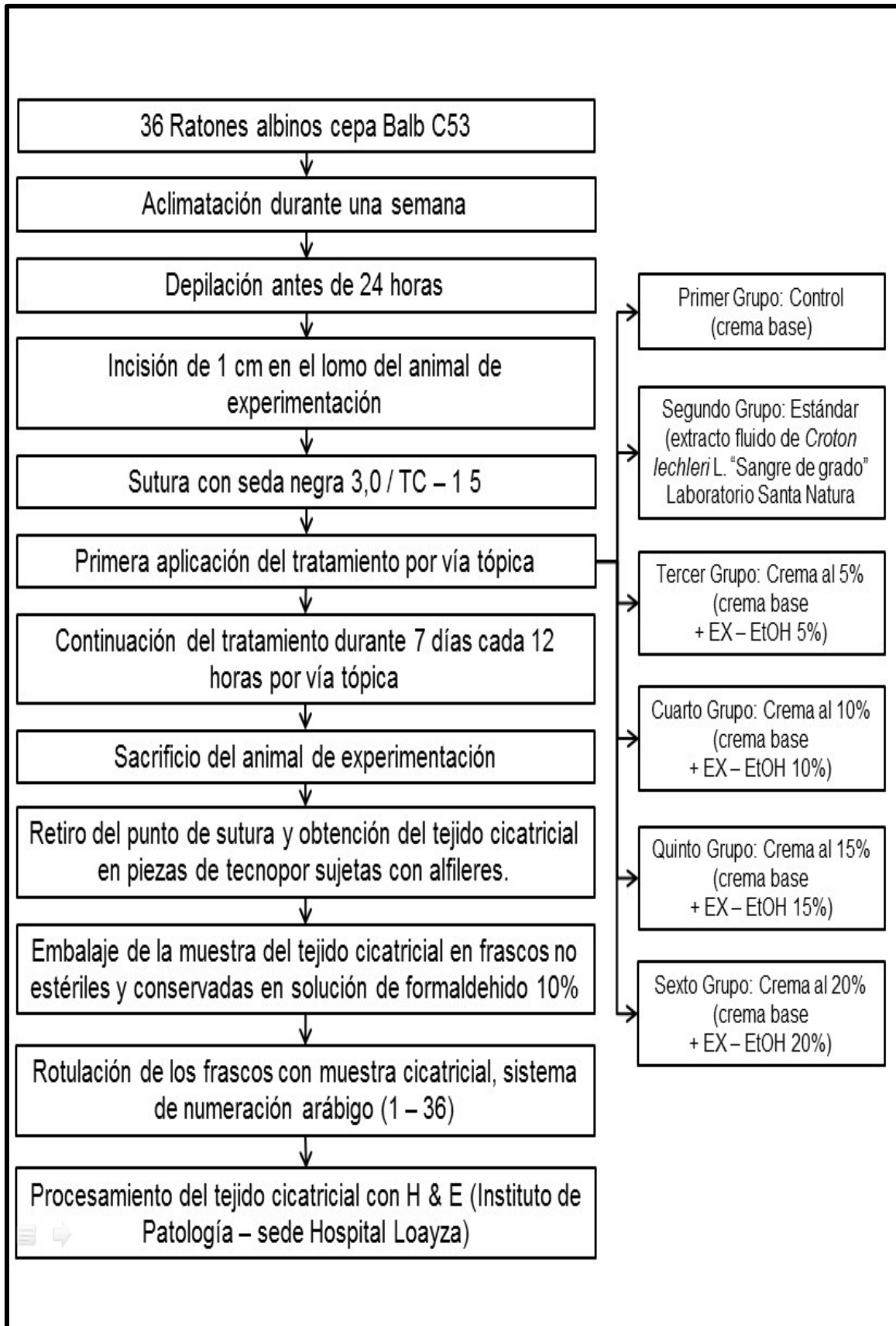


Figura 11. Estudio Farmacológico y anátomo – patológico.

IV. RESULTADOS

4.1 DEL ESTUDIO BOTÁNICO

4.1.1 Clasificación sistemática

La especie *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl pertenece al género *Muehlenbeckia*, familia Polygonaceae. (Anexo 1)

4.2 DEL ESTUDIO QUÍMICO

4.2.1 Prueba de solubilidad y análisis fitoquímico

La solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl frente a solventes de polaridad creciente, así como el análisis fitoquímico se muestran en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Prueba de Solubilidad del EX - EtOH de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” (20 mg extracto / 1 mL de solvente).

Solventes (mL)	Resultado
Éter Etílico	-
Éter de petróleo	-
Benceno	-
Acetona	-
Cloroformo	-
n – hexano	-
Acetato de etilo	-
Butanol	-
Etanol	+
Metanol	+
Agua destilada	-

Leyenda: Soluble (+), Insoluble (-).

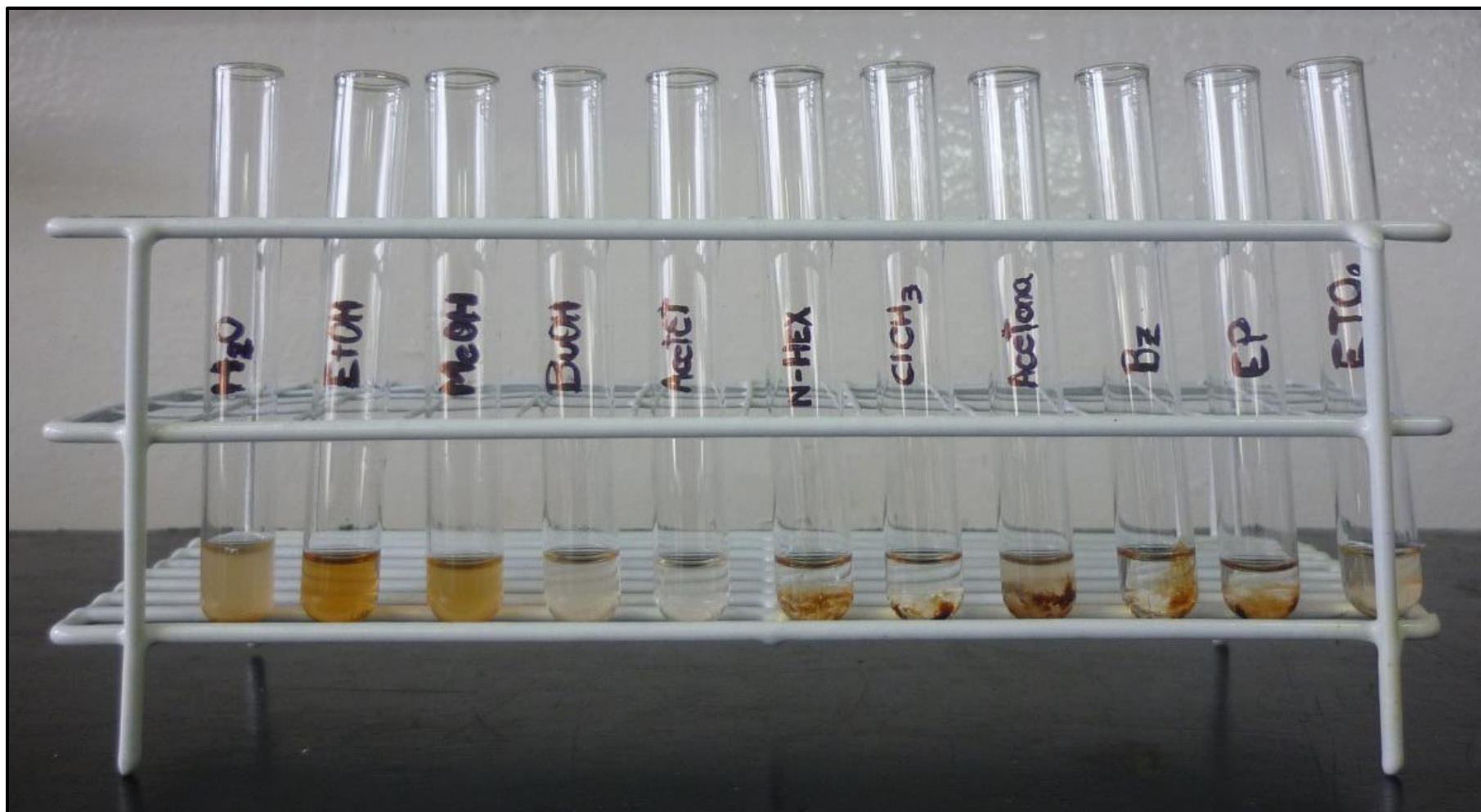


Figura 12. Prueba de Solubilidad del EX - EtOH de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl "Tic Tic Quillur".

Tabla 3. Análisis fitoquímico del EX – EtOH de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” (20 mg extracto / 1 mL de etanol).

Reactivos	Metabolitos	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	+
Mayer		+
Popoff		+
Sonneschein		+
Wagner		+
Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenos	-
Salkowski	Esteroides	+
Shinoda	Flavonoides	+
Tricloruro de aluminio		+
Reactivo de Gelatina - NaOH	Taninos	+
Tricloruro férrico	Compuesto fenólico	+
Índice de espuma	Saponinas	-

Leyenda: Presencia (+), Ausencia (-)



Figura 13. Identificación de flavonoides con el reactivo de $AlCl_3$ y observación en la lámpara UV.

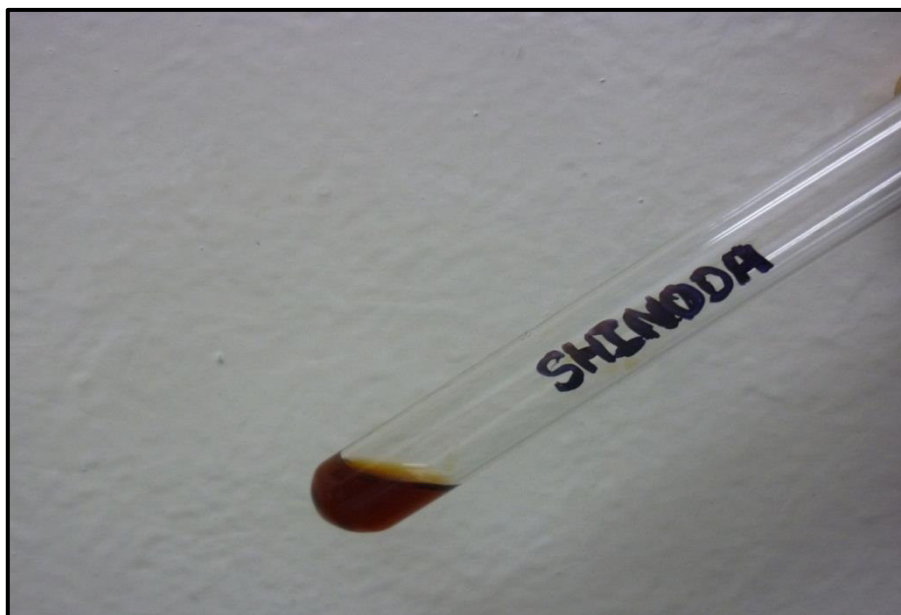


Figura 14. Reconocimiento de flavonoides con el reactivo de Shinoda.

4.3 DEL ESTUDIO FARMACOLÓGICO

4.3.1 Del Test de cicatrización

Como se muestra en la figura 17, la cicatriz formada es más estrecha en los grupos tratados con el estándar de *Croton lechleri* L. (Sangre de grado) y las cremas preparadas a base al extracto etanólico de hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl en comparación con el grupo control, que muestra una cicatriz con costra y aún en proceso de cicatrización.

Las heridas tratadas con las cremas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl muestran signos significativos de cicatrización luego de siete días de tratamiento. Siendo estéticamente la mejor, la del grupo tratado con la crema EX – EtOH 20%.

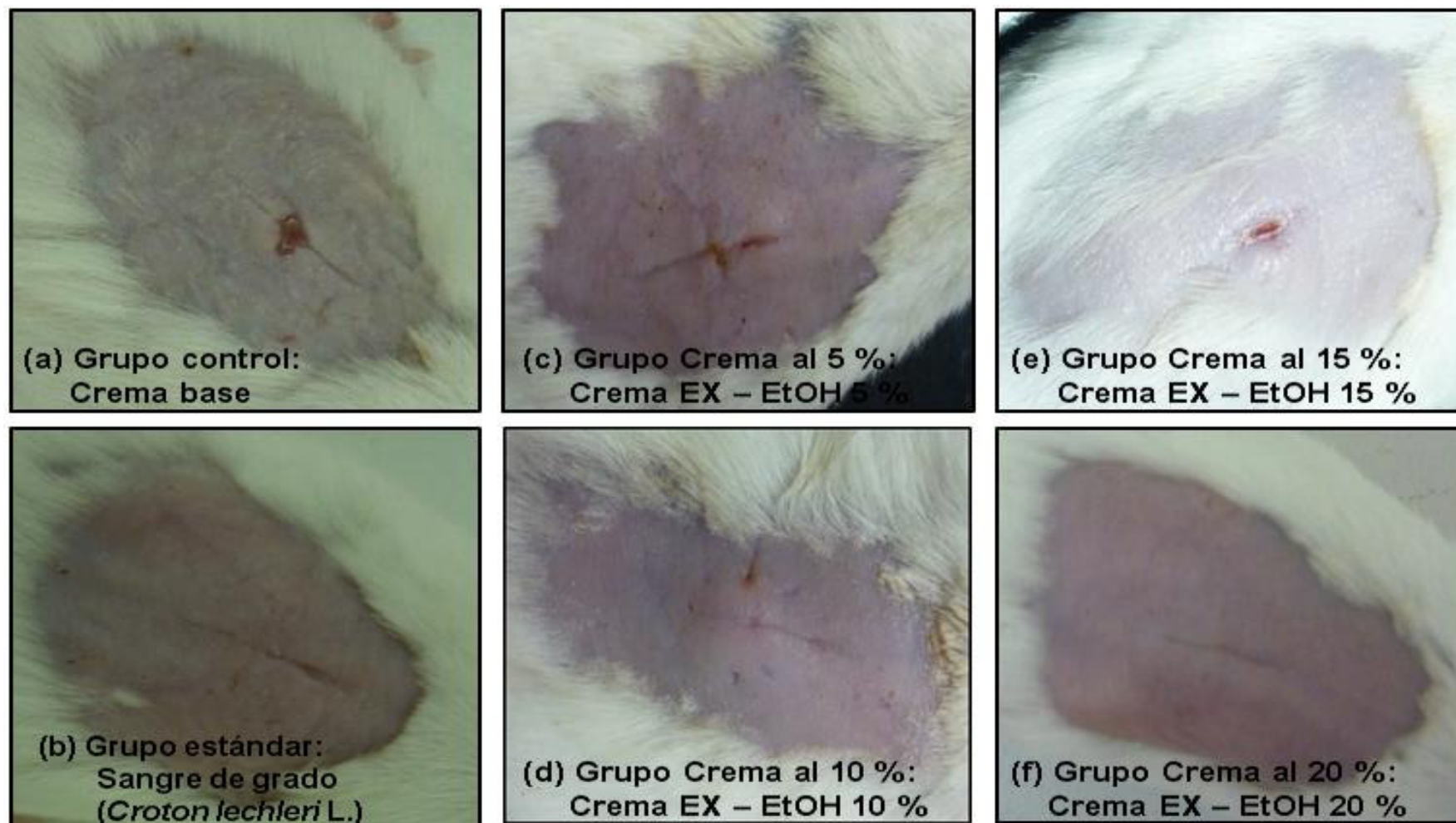
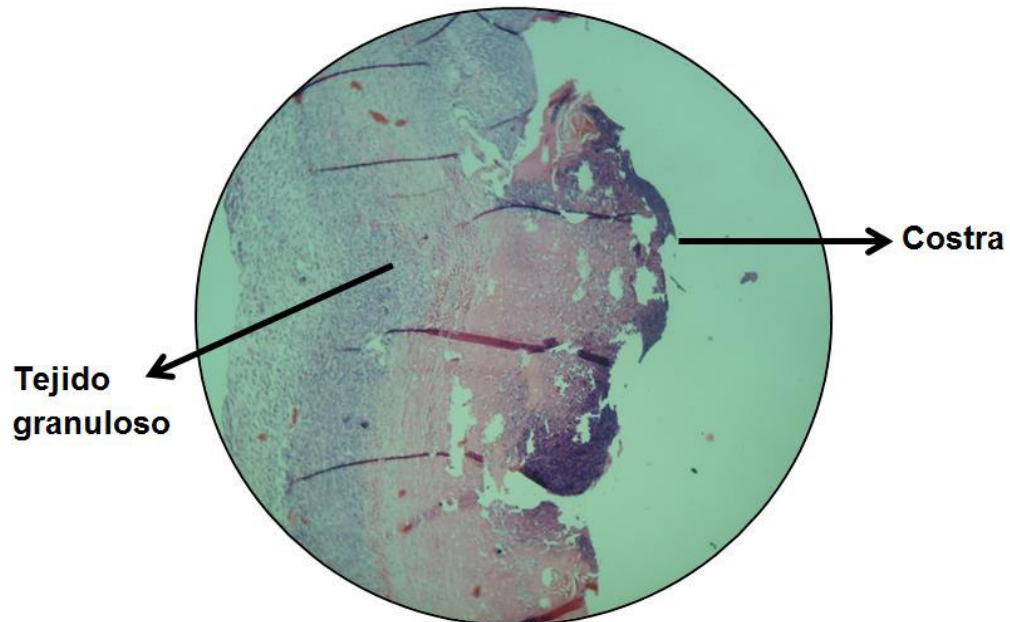


Figura 15. Vista macroscópica de la apariencia de la piel de lomo de ratón luego de siete días de tratamiento

4.3.2 Del Estudio anátomo – patológico



REACCIÓN CICATRICIAL

Figura 16. Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema base (Grupo Control) H&E a 40x

En la figura 16. Se observa la presencia de tejido granuloso o tejido conjuntivo fibroso y la formación de vasos con gran infiltración de macrófagos, se encuentran ausentes la capa córnea y la epidermis, mientras que la lámina propia está reemplazada por una costra (reacción cicatricial) como respuesta natural del tejido ante la lesión. ⁽³⁶⁾

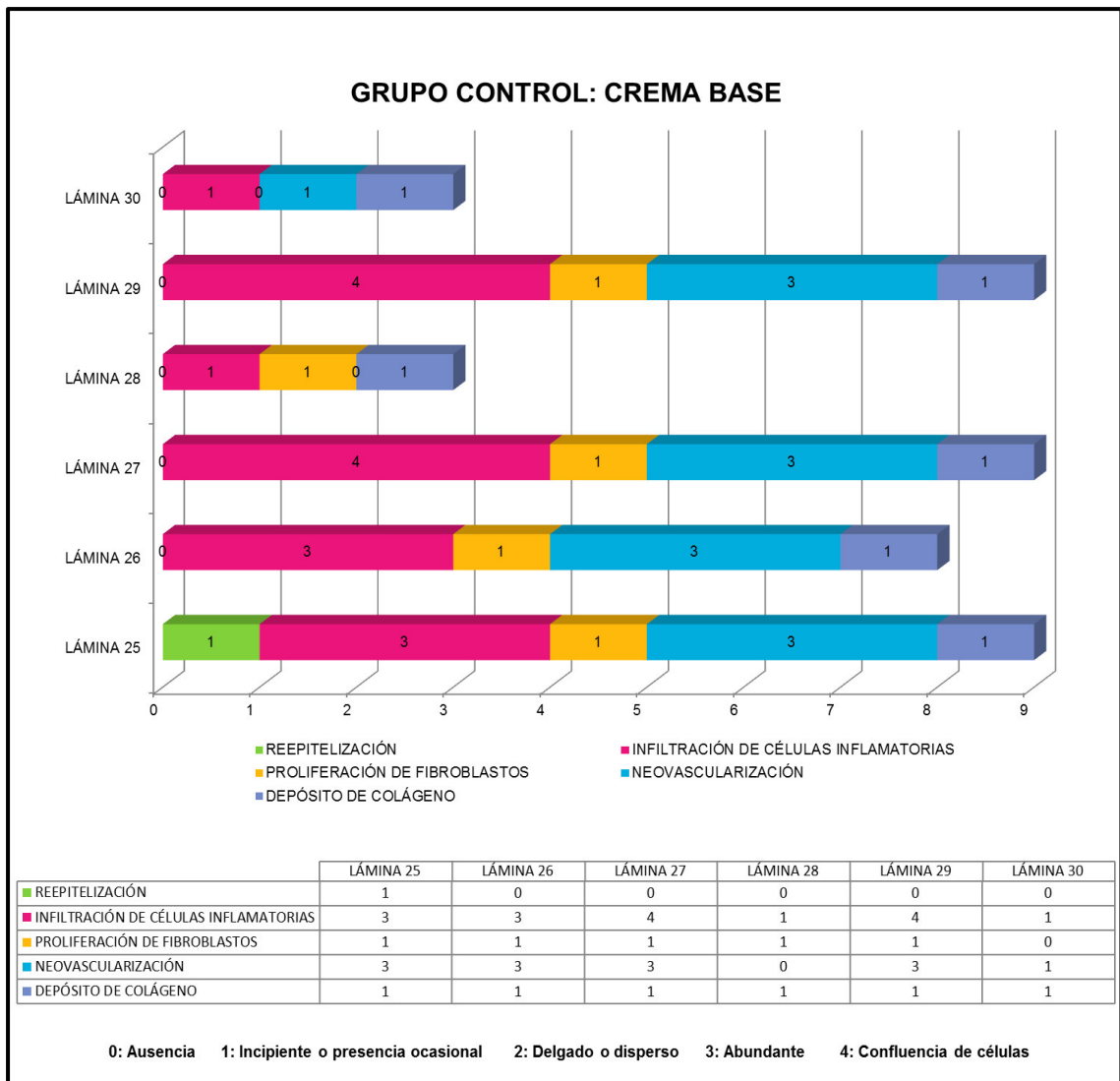


Figura 17. Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema base (Grupo Control)

En la figura 17. El gráfico expone la ausencia de reepitelización en las muestras a excepción de la lámina 25 que está iniciando, esto se debe probablemente a que cuando se realizó la toma de la muestra del tejido cicatricial, la fase proliferativa empezaba.

El colágeno laxo como el compacto fue escaso en todas las muestras, al igual que la presencia de fibroblastos. Sin embargo, lo más resaltante fue el alto número de células inflamatorias halladas, además de la gran cantidad de vasos

sanguíneos, solo en las láminas 28 y 30 no hubo reacción inflamatoria, lo que indica que cada cuerpo puede reaccionar de forma diferente.

La literatura nos explica que durante la fase inflamatoria que antecede la fase proliferativa los macrófagos se comportan como células inflamatorias, descontaminan la herida a través de la fagocitosis estimulan la liberación de Interleucina (IL-8), la cual atrae neutrófilos, aumentando así la destrucción tisular. En un segundo momento, al unirse a la matriz extracelular (MEC), cambian fenotípicamente y su función se convierte en reparadora, liberan citoquinas y factores de crecimiento (TGF α y β , PDGF, FGF y IGF-1) que inducen a la angiogénesis, la formación de tejido de granulación y estimulan la proliferación de fibroblastos. ⁽³⁰⁾

Probablemente lo mencionado explique la gran cantidad de macrófagos y vasos sanguíneos.

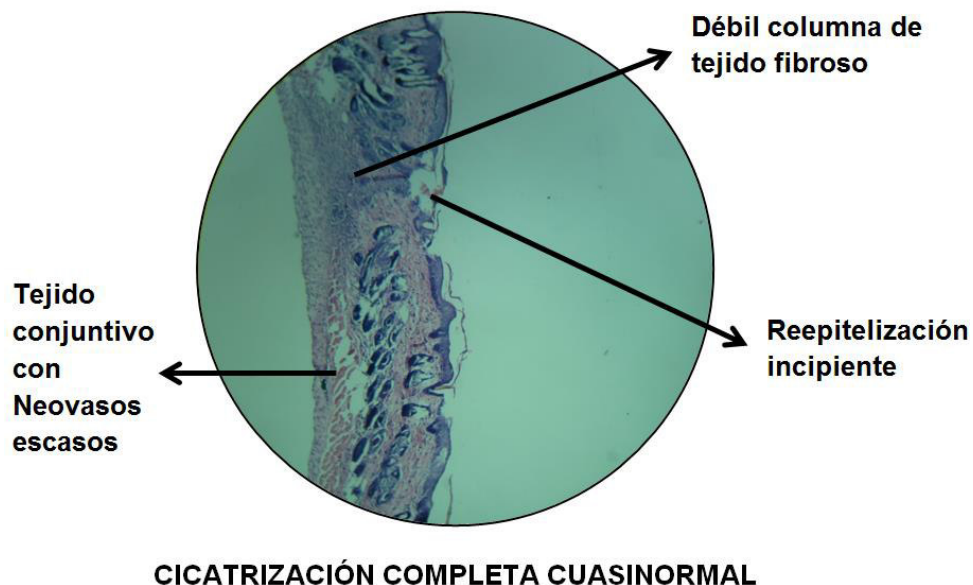


Figura 18. Corte anátomo – patológico del tratamiento con *Croton lechleri* L. (Sangre de grado) de Santa Natura (Grupo Estándar) H&E a 40x

En la figura 18. Se observa el tejido conjuntivo, pocos vasos sanguíneos y tejido fibroso, propios del proceso de cicatrización, sin embargo, la reepitelización aún es incipiente, por encontrarse escasamente la capa córnea

y la epidermis en plena formación. Esta cicatrización es fuerte por la presencia de tejido cicatricial, pero estéticamente no es funcional. ⁽³⁶⁾

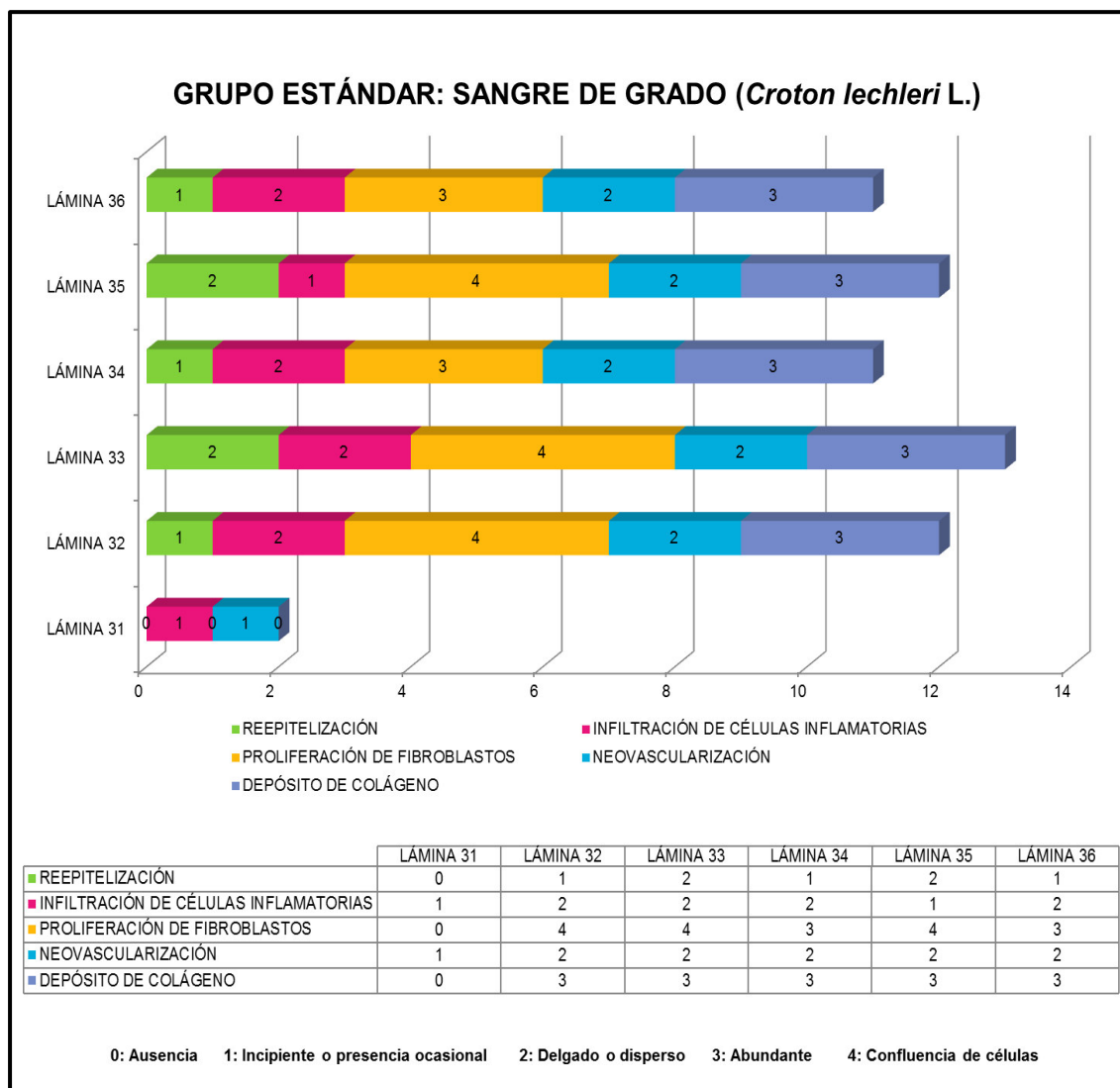


Figura 19. Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con *Croton lechleri* L. (Sangre de grado) de Santa Natura (Grupo Estándar)

En la figura 19. El gráfico muestra reepitelización, en el microscopio se observó epidermis en formación y en algunos casos epidermis delgada.

La infiltración de células inflamatorias era menor en comparación con el grupo control, probablemente porque se hallaban en desarrollo de la fase proliferativa,

lo que también explicaría el menor número de vasos sanguíneos y la gran cantidad de fibroblastos así como la presencia de colágeno laxo y compacto.

En la gráfica, la lámina 31 muestra que el resultado es inferior al resto de parámetros, esto se debe a que en el corte realizado por el micrótomó resultó fallido, consiguiéndose solo observar en el microscopio una leve infiltración de macrófagos y presencia de neovascularización.

Se sabe que *Croton lechleri* L. (Sangre de grado) favorece la cicatrización a través de la proliferación de fibroblastos, siendo el alcaloide taspina el implicado en este proceso ⁽³⁾, lo descrito se correlaciona con la abundante cantidad de fibroblastos observados en las muestras del grupo estándar.

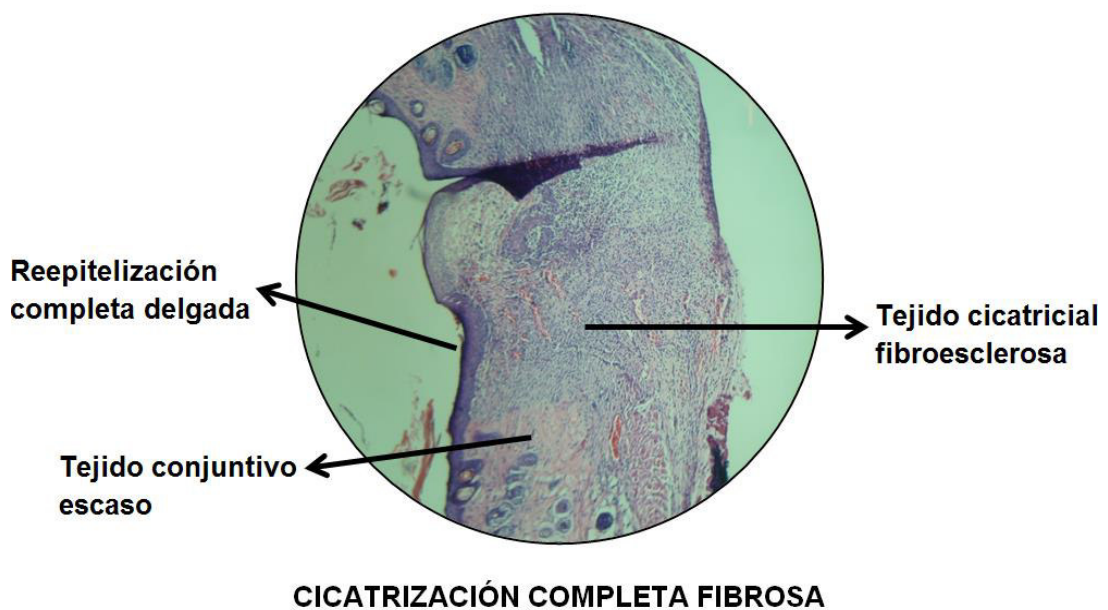


Figura 20. Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 5% (Grupo Crema al 5%) H&E a 40x

En la figura 20. Se observa reepitelización completa de la epidermis pero delgada, en contraste es abundante el tejido fibrótico, revelando la gran resistencia que ha desarrollado el tejido, pero que no sería estéticamente favorable. ⁽³⁶⁾

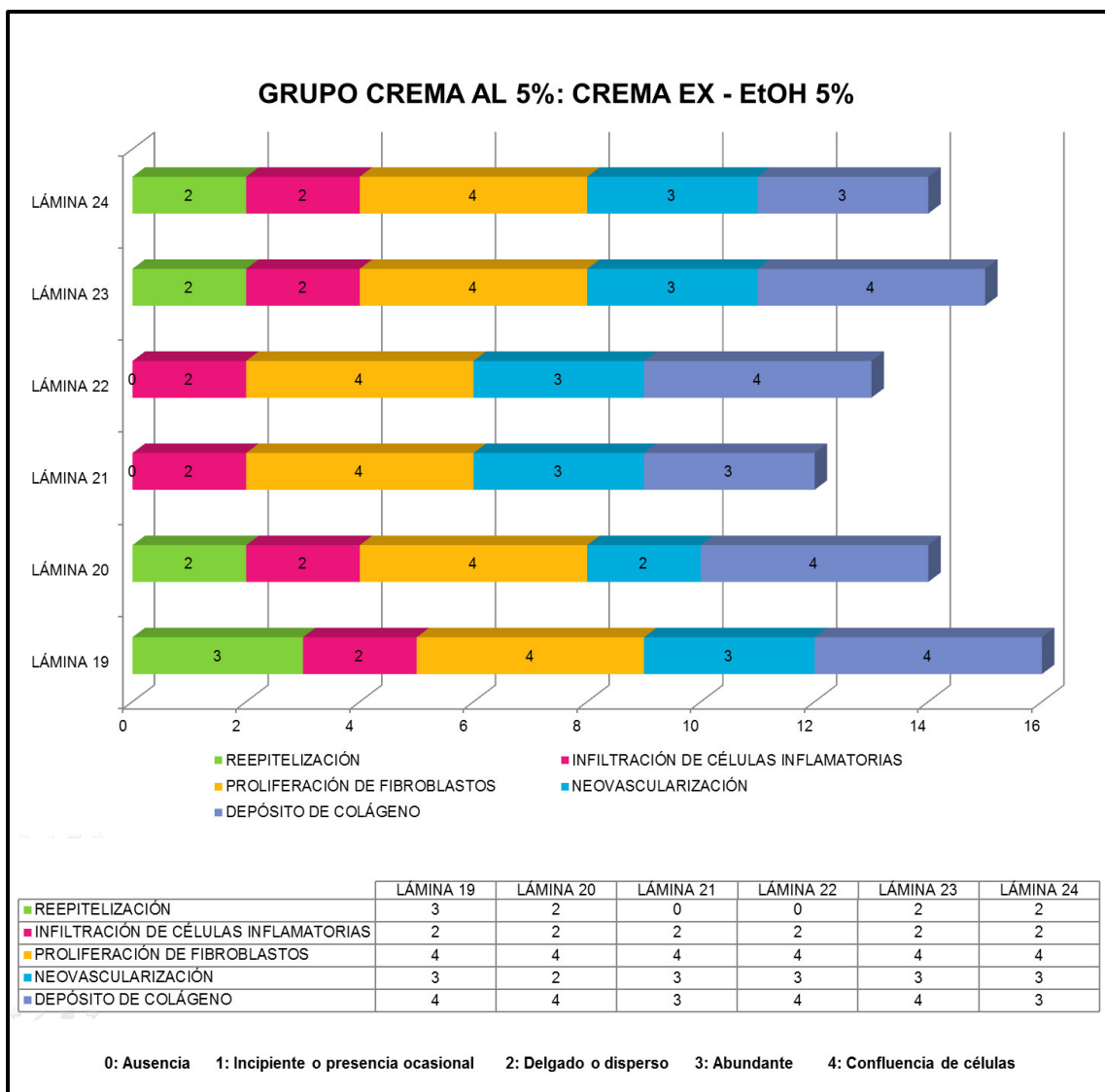


Figura 21. Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 5% (Grupo Crema al 5%)

En la figura 21. Se denota presencia de reepitelización delgada en la mayoría de muestras, menor cantidad de células inflamatorias, gran número de fibroblastos (tejido fibrótico), presencia de vasos sanguíneos y depósito de colágeno laxo y compacto en cantidades similares.

Se deduce que el tejido cicatricial de las muestras tomadas se encontraba en la fase proliferativa por el tejido fibrótico presente, la presencia abundante de vasos sanguíneos se debe a que aún el tejido de granulación se encontraba en

eliminación. En las muestras donde no se observó reepitelización fue por la presencia de costras.

La literatura señala que para que se lleve a cabo la epitelización de la herida, los queratinocitos deben migrar desde los bordes de la herida o desde los anexos remanentes con el fin de restablecer la barrera cutánea, para ello, necesitan una matriz rica en colágeno. Este proceso no ocurre cuando la piel está sana puesto que los queratinocitos no están en contacto con el colágeno de la dermis (I, III y V), mientras que sí están en contacto con la laminina de la lámina lúcida, la cual inhibe la migración de éstos.⁽³⁰⁾

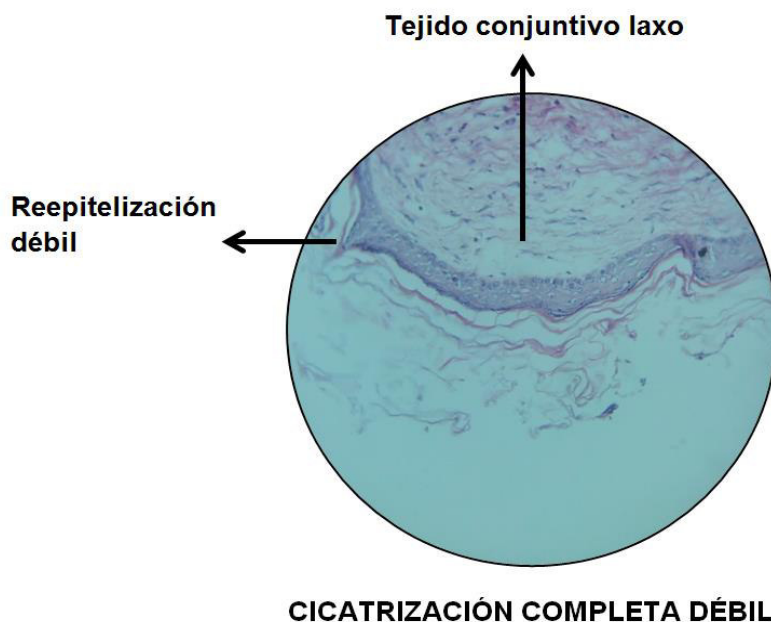


Figura 22. Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 10% (Grupo Crema al 10%) H&E a 40x

En la figura 22. Se observa reepitelización débil, con una capa córnea laminar y una epidermis completa pero delgada además de la presencia de tejido conjuntivo laxo, aunque la cicatrización ya está completa.⁽³⁶⁾

El epitelio formado en comparación con un tejido normal, no es estéticamente favorable, pero se encuentra mejor estructurado en comparación al tratamiento con la crema del EX – EtOH 5%.

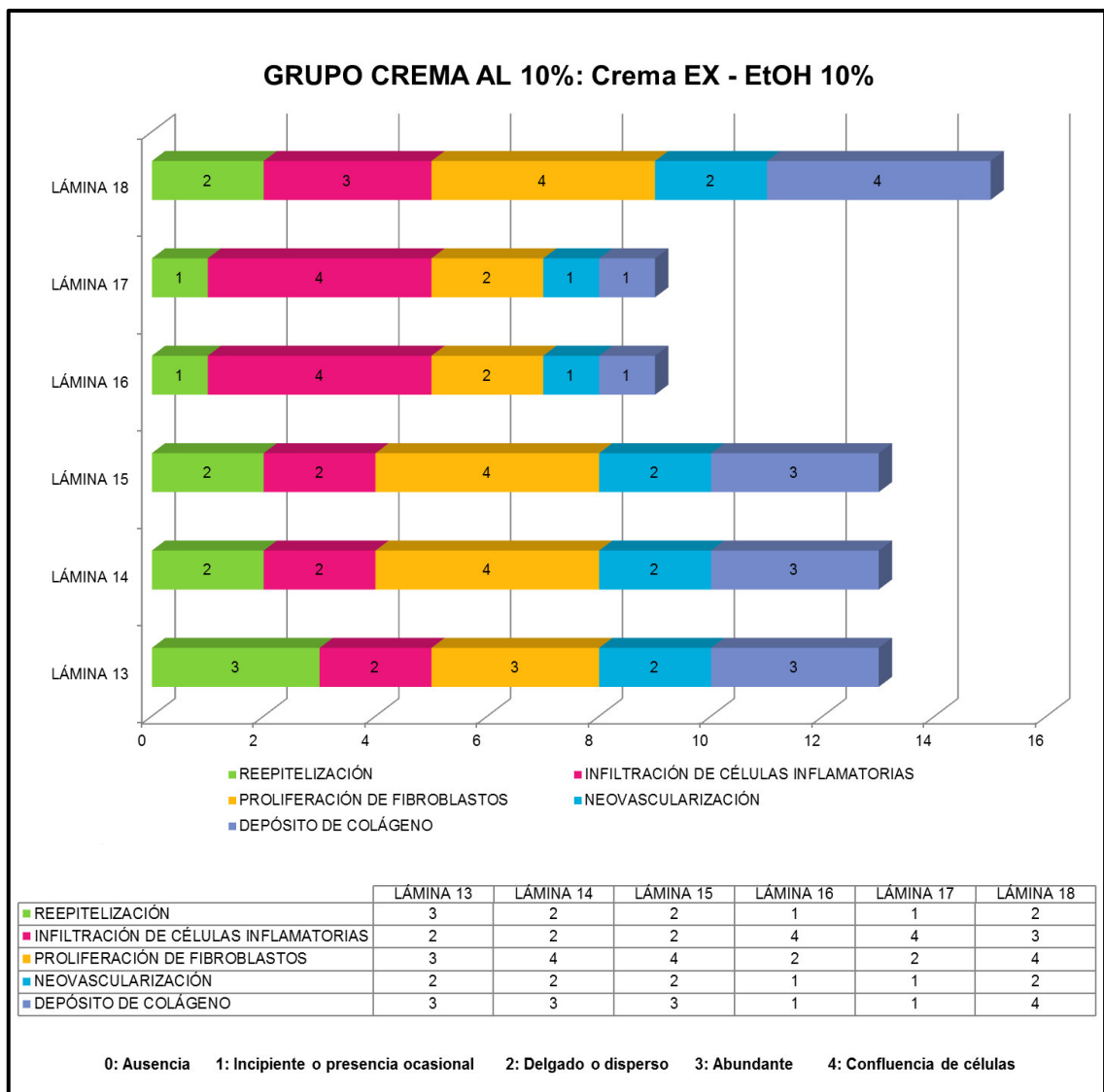


Figura 23. Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 10% (Grupo Crema al 10%)

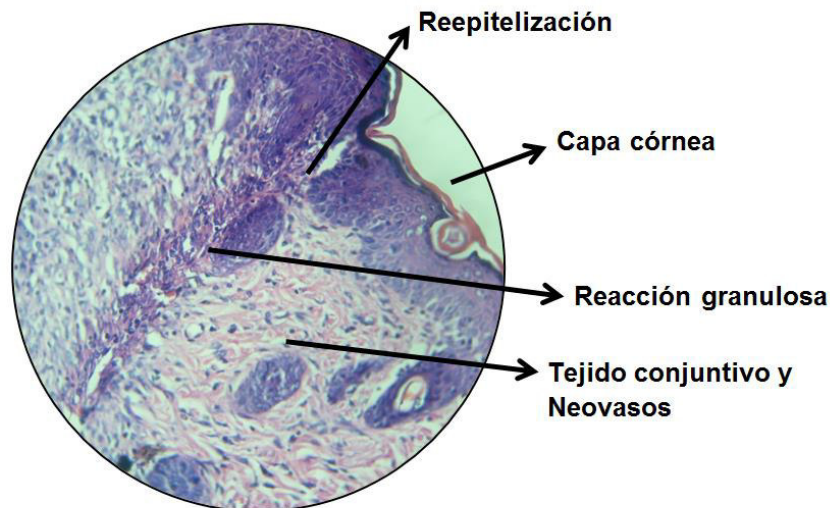
En la figura 23. Se observa que la reepitelización está presente en todas las muestras, presencia de células inflamatorias, gran cantidad de fibroblastos, vasos sanguíneos y depósito de colágeno.

Solo en las láminas 16 y 17 se observó gran infiltración de macrófagos, deduciéndose que la cicatrización estaba retardada debido a la ulceración que se halló.

La literatura señala que la angiogénesis se inicia simultáneamente con la fibroplasia, donde las células endoteliales de los vasos adyacentes a la herida

migran hasta la herida, el factor de crecimiento vascular - endotelial (VEGF) favorece la proliferación endotelial, mientras que la disminución de la tensión de O₂, estimula a los macrófagos para que produzcan y secreten factores angiogénicos. La migración de las células endoteliales hacia el intersticio dará origen a los plexos capilares. Luego de 1 ó 2 días cesan los estímulos angiogénicos, los macrófagos fagocitan los capilares necrosados.⁽³⁴⁾

Se considera que la leve disminución de los vasos sanguíneos se deba a lo mencionado antes.



CICATRIZACIÓN COMPLETA PARCIAL

Figura 24. Corte anatómo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 15% (Grupo Crema al 15%) H&E a 40x

En la figura 24. Se observa el tejido conjuntivo y neovasos formados, con presencia de reacción granulosa, la reepitelización es completa, sin embargo, la cicatrización es parcial, porque la capa córnea es laminar y la epidermis gruesa.⁽³⁶⁾

No es estéticamente favorable, pero se encuentra mejor estructurado en comparación al tratamiento con la crema EX – EtOH 5% y la crema EX – EtOH 10%.

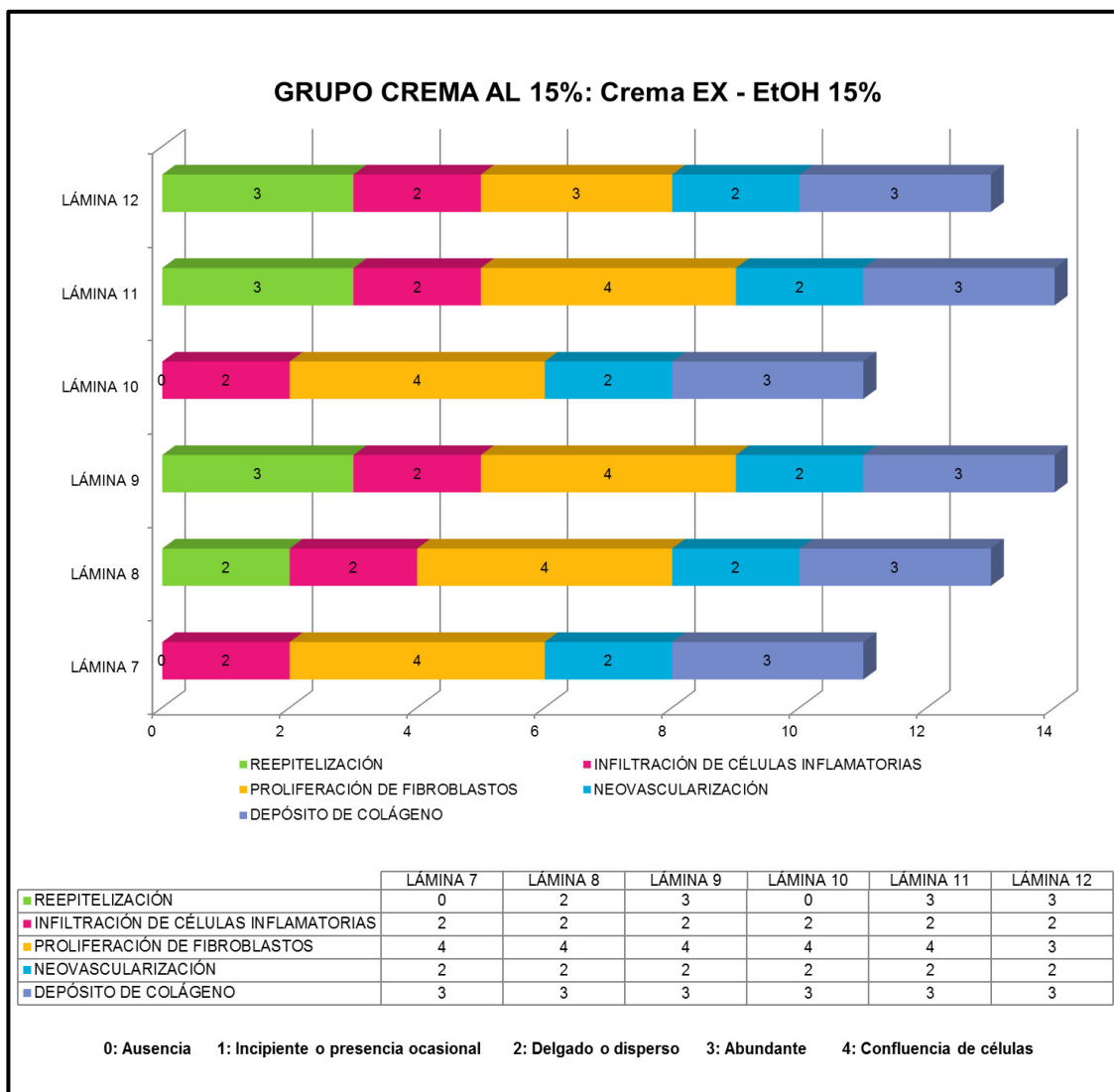


Figura 25. Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 15% (Grupo Crema al 15%)

En la figura 25. Se observa que las muestras de tejido cicatricial presentan reepitelización, infiltración de macrófagos, reacción fibrótica debido a la alta cantidad de fibroblastos, buena irrigación de vasos sanguíneos y la presencia de colágeno laxo y compacto. Solo en las láminas 7 y 10 está ausente la epidermis, pues se encuentra reemplazada por una costra.

Según la literatura, la remodelación corresponde a las últimas fases del proceso de reparación, en las que disminuyen las células inflamatorias y se completa la formación de capilares; implica el restablecimiento del equilibrio entre el depósito y la degradación de colágeno. Los vasos sanguíneos se

pierden y el colágeno se remodela y realinea a lo largo de las líneas de tensión de la piel. Las nuevas fibras son más cortas y desorganizadas, por lo que la cicatriz nunca llegará a tener la misma fuerza tensora de la piel normal ⁽⁴⁰⁾.

Correlacionando lo mencionado con los datos obtenidos se puede presumir que al momento de la extracción de las muestras del tejido cicatricial del lomo de los ratones, se encontraban iniciando la fase de remodelación debido a los escasos vasos sanguíneos hallados y poca infiltración de macrófagos. En relación al depósito de colágeno, se observa que es moderado, mientras que la presencia de fibroblastos confirma que aún no se ha alcanzado la cantidad necesaria de colágeno pues en la última fase de la cicatrización los fibroblastos inician su proceso de apoptosis, es decir, la transición de una cicatriz rica en fibroblastos y tejido de granulación a una cicatriz acelular rica en colágeno ⁽³⁴⁾.

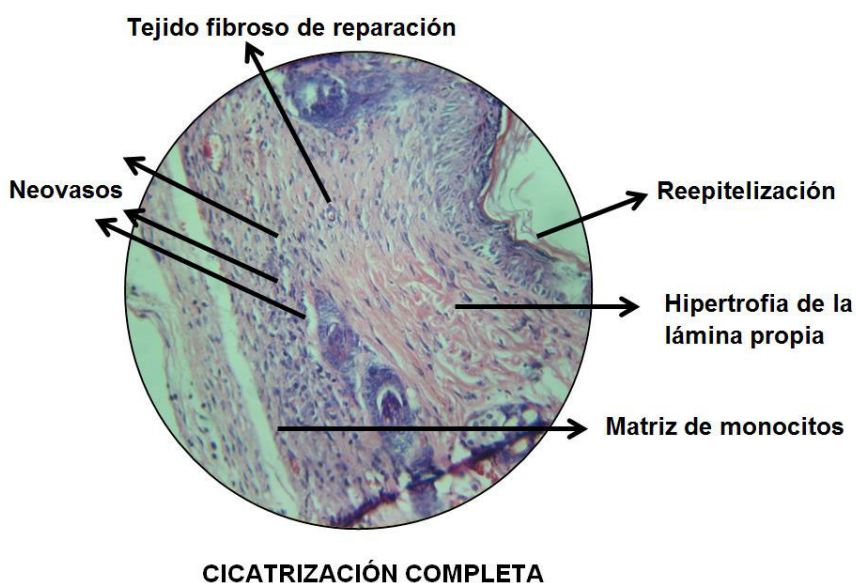


Figura 26. Corte anatómo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 20% (Grupo Crema al 20%)

En la figura 26. Se observa que la capa córnea está presente y la reepitelización está completa, la presencia de macrófagos, tejido conjuntivo y vasos sanguíneos es normal. ⁽³⁶⁾ Esta cicatrización muestra la mejor

recuperación del tejido epitelial puesto que se asemeja a una muestra de tejido normal sin incisión.

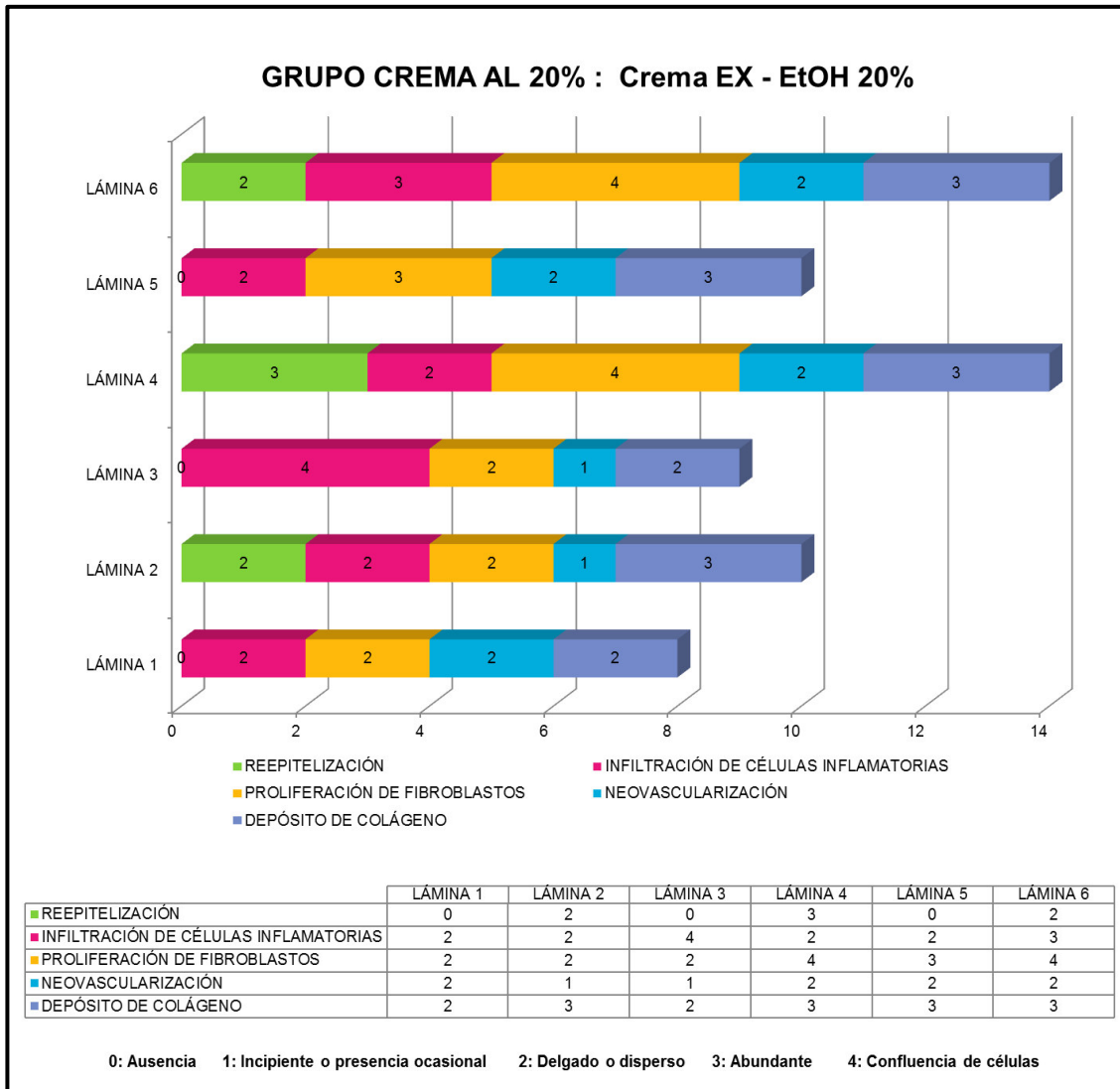


Figura 27. Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 20% (Grupo Crema al 20%)

En la figura 27. Se obtuvo reepitelización en algunas muestras, presencia de células inflamatorias, fibroblastos, vasos sanguíneos y de colágeno. El patólogo indicó la abundante presencia de tejido de granulación en todas las muestras.

Tanto en la lámina 1, 3 y 5 la epidermis estuvo ausente, debido a la formación de un absceso de las dos primeras muestras y en la última por necrosación.

En la lámina 2 se denotó la piel ampollada, probablemente por ello la epidermis se encontraba adelgazada y los vasos sanguíneos congestivos.

En la lámina 4 se observó gran cantidad de fibroblastos, indicando el patólogo que probablemente se formaría un queloide, por la rigidez de la cicatriz.

En la lámina 6 se observó reepitelización pero la epidermis era delgada todavía, con una buena cantidad de fibroblastos, macrófagos abundantes, buena irrigación sanguínea y depósito de colágeno.

Probablemente la variabilidad de los datos obtenidos se deba a externalidades como fallas en la cantidad de aplicación del tratamiento.

La literatura señala que sin importar el tamaño de la herida, las fases de la cicatrización siguen una curva exponencial con un rango constante de contracción, por ello, una herida más grande que otra puede duplicar el tiempo necesario para cerrarse, sin embargo, así sea de primera o segunda intención, la contracción de la misma depende más de su ubicación, afectándola entre un 39 a 62% ⁽⁴¹⁾, probablemente la variabilidad de los datos también esté relacionado a ello.

4.3.3 Del Análisis Estadístico

Tabla 4. Prueba de Kolmogorov – Smirnov para una muestra

		Respuesta
		36
Parámetros normales a, b.	Media	25,69
	Desviación típica	0,346
Diferencias más extremas	Absoluta	0,216
	Positiva	0,216
	Negativa	-0,172
Z de Kolmogorov-Smirnov		1,294
Sig. asintót. (bilateral)		0,070

Se determina que los datos presentan distribución normal.

Tabla 5. Prueba de ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamiento	0,076	5	0,015	0,111	0,989
Error	4,112	30	0,137		
Total	4,188	35			

La diferencia significativa entre los tratamientos es de 0,989.

Tabla 6. Comparaciones múltiples

(I) Grupos	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	0,050	0,214	0,817	-0,39	0,49
	3	0,050	0,214	0,817	-0,39	0,49
	4	0,150	0,214	0,488	-0,29	0,59
	5	0,067	0,214	0,757	-0,37	0,50
	6	0,033	0,214	0,877	-0,40	0,47
2	1	-0,050	0,214	0,817	-0,49	0,39
	3	0,000	0,214	1,000	-0,44	0,44
	4	0,100	0,214	0,643	-0,34	0,54
	5	0,017	0,214	0,938	-0,42	0,45
	6	-0,017	0,214	0,938	-0,45	0,42
3	1	-0,050	0,214	0,817	-0,49	0,39
	2	0,000	0,214	1,000	-0,44	0,44
	4	0,100	0,214	0,643	-0,34	0,54
	5	0,017	0,214	0,938	-0,42	0,45
	6	-0,017	0,214	0,938	-0,45	0,42
4	1	-0,150	0,214	0,488	-0,59	0,29
	2	-0,100	0,214	0,643	-0,54	0,34
	3	-0,100	0,214	0,643	-0,54	0,34
	5	-0,083	0,214	0,699	-0,52	0,35
	6	-0,117	0,214	0,589	-0,55	0,32
5	1	-0,067	0,214	0,757	-0,50	0,37
	2	-0,017	0,214	0,938	-0,45	0,42
	3	-0,017	0,214	0,938	-0,45	0,42
	4	0,083	0,214	0,699	-0,35	0,52
	6	-0,033	0,214	0,877	-0,47	0,40
6	1	-0,033	0,214	0,877	-0,47	0,40
	2	0,017	0,214	0,938	-0,42	0,45
	3	0,017	0,214	0,938	-0,42	0,45
	4	0,117	0,214	0,589	-0,32	0,55
	5	0,033	0,214	0,877	-0,40	0,47

V. DISCUSIÓN

El resultado de la prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”, permitió reconocer que los compuestos químicos presentes son solubles en disolventes orgánicos polares, etanol y metanol (Tabla 2) concordando con otros estudios realizados especies del mismo género, como es el caso de *Muehlenbeckia hastulata*, la cual es soluble no solo en etanol sino también en otros disolventes de polaridad media ⁽¹⁰⁾, ⁽¹²⁾, ⁽¹³⁾ y *Muehlenbeckia plantyclada*, que también es soluble en etanol. ⁽¹¹⁾

En el análisis fitoquímico, utilizando reactivos de coloración y precipitación, se detectó la presencia de alcaloides, pues se obtuvo resultados positivos en las cinco reacciones realizadas ⁽³⁷⁾; y compuestos fenólicos (Tabla 3), los que se presume que son taninos hidrolizables debido a la coloración azul obtenida con tricloruro férrico ⁽²⁷⁾, además de ser positiva la reacción de gelatina – sal ⁽³⁷⁾, por otro lado, la coloración roja con el reactivo de Shinoda indica la presencia de flavonas. ⁽³⁸⁾

Productos naturales como triterpenos y/o esteroides, alcaloides, flavonoides, y otras biomoléculas, promueven el proceso de cicatrización de heridas a través de la influencia en una o más fases del proceso de cicatrización, como son la coagulación, inflamación, fibroplasia, formación de la matriz de colágeno, reepitelización, y contracción de la herida. ⁽³⁹⁾ Entre ellos tenemos a la taspina, alcaloide proveniente del árbol de Sangre de Grado *Croton lechleri* L. (Euphorbiaceae) que acelera el proceso de cicatrización al incrementar la quimiotaxis o migración de fibroblastos a la herida. ⁽³⁾ Flavonas como la quercetina, isoflavona y catequina tienen actividad antimicrobiana ⁽⁴²⁾, se sabe que esta última inactiva la toxina de *Vibrio cholerae* O1 e inhibe las glicosiltransferasas en *Streptococcus mutans*. ⁽⁴³⁾ Los taninos detienen el sangrado formando costras al unirse a las proteínas creando un medio "seco" que impide el desarrollo de las bacterias, además constriñen los vasos sanguíneos ayudando a la coagulación de la sangre, y por tanto contribuyen a la curación de las heridas ⁽⁴⁴⁾, caso del *Plantago major* (Llantén) y *Nasturtium officinale* (Berro) donde el contenido de

taninos y flavonoides aceleran el tiempo de caída de la costra y regeneración de la piel. ⁽¹⁴⁾

Probablemente la presencia de los metabolitos identificados en el análisis fitoquímico actúen de forma similar, sin embargo, se deben realizar estudios químicos para elucidar las estructuras correspondientes además de otras pruebas farmacológicas para proponer el mecanismo correspondiente, pues se sabe que *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl tiene actividad antioxidante, debido posiblemente a la presencia de polifenoles y flavonoides. ⁽⁸⁾

Los parámetros de evaluación para comprobar el efecto cicatrizante fueron reepitelización (epidermis y capa córnea), presencia de células inflamatorias infiltradas (macrófagos principalmente), presencia de fibroblastos (tejido fibrótico), neovascularización (vasos sanguíneos) y depósito de colágeno (tejido conjuntivo, colágeno laxo, colágeno compacto), a través de una escala numérica del 0 al 4 (ausencia, incipiente o presencia ocasional, delgado o disperso, abundante y confluencia de células).

Durante la epitelización las células epiteliales migran a través del nuevo tejido para cubrir la herida. Los queratinocitos basales procedentes de los márgenes de la herida y apéndices dérmicos, son las principales células responsables, desplazándose desde el borde hacia el centro de la herida. Se necesita tejido viable para migrar, por lo que si la herida es profunda primero debe ser rellenada con tejido granular. Esta migración se ve favorecida por el medio húmedo producido por la irrigación de los vasos sanguíneos ⁽³⁴⁾, de lo mencionado y los resultados obtenidos en cada grupo tratado con las cremas que contienen extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” al 5%, 10%, 15% y 20% se puede deducir que favorecen la cicatrización al incrementar la producción del tejido de granulación y de esta manera acelerar la reepitelización. Así mismo, incrementan la proliferación de fibroblastos lo que se correlaciona con el estudio de Gutierrez JE, et.al., realizado el año 2008 que concluyó que *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl tendría efectos estimulantes pues no produjo inhibición del crecimiento de los mismos en el estudio in vitro. ⁽⁸⁾

Aunque todos los cortes anatómo – patológicos pertenecientes a las muestras tratadas con las cremas a diferentes porcentajes del extracto etanólico

muestran cicatrización completa, el patólogo determinó que la muestra de la crema con el extracto etanólico de las hojas "*Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl "Tic Tic Quillur" al 20% era la que presentaba mejor estética, lo que se correlaciona con la observación macroscópica.

De forma adicional se considera la hipodermis y la capa muscular, también evaluadas con las mismas pruebas estadísticas pero que no tienen mayor impacto pues las incisiones practicadas en los ratones fueron de espesor parcial, es decir no llegaron a atravesar la hipodermis ni la capa muscular, esperándose por ello, que cicatricen por primera intención.⁽³⁶⁾

Se utilizó la Prueba de Kolmogorov – Smirnov en una muestra (Tabla. 4), por lo tanto, la distribución de la variable se ajusta a una distribución teórica de probabilidad con tendencia a la normal⁽⁴⁵⁾ (variables ordinales y continuas).

VI. CONCLUSION

Se estableció a través del estudio taxonómico que el nombre científico de la especie vegetal “Tic Tic Quillur” es *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.

El extracto etanólico preparado en base a las hojas de ésta es soluble en solventes polares y contiene flavonoides.

En los cortes anátomo – patológicos con las cremas que contienen extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” al 5%, 10%, 15% y 20% se observó que producen mayor cantidad de tejido granuloso, neovasos, fibroblastos y aceleran la reepitelización al compararla con el placebo, mientras que con el estándar presentan similitud, por lo tanto, las cremas a base del extracto etanólico de las hojas *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” tienen buena actividad cicatrizante por vía tópica, demostrándose con cortes anátomo - patológicos.

VII. RECOMENDACIONES

Dentro de los desafíos hallados dentro del trabajo de investigación, se encuentran:

1. La recolección de información, por lo que, se recomienda la creación de un organismo científico nacional donde se publiquen de forma obligatoria todos los trabajos de investigación y tesis de las diferentes universidades nacionales y privadas, además de una dirección en cada biblioteca de las universidades donde estén registrados también los trabajos de investigación que realizan y así promover su difusión y evitar la duplicidad de estudios.
2. Los trabajos de investigación de especies vegetales de la costa, sierra y selva que han validado su uso tradicional, por universidades nacionales y privadas, deben ser publicadas en una Farmacopea de Plantas Medicinales, que sirva como fuente de información para otros trabajos de investigación.
3. Toda universidad debe contar con un Comité de Ética de Investigación para poder desarrollar trabajos de investigación con animales de experimentación
4. Finalmente, incentivar la creación de empresas para satisfacer la demanda del mercado interno, bajo un costo razonable y así contribuir con productos terminados que cuenten con sustento científico. ^{(46) - (48)}

VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Domínguez, XA. Métodos de Investigación Fitoquímica. México DF: LIMUSA; 1973.
2. Ramos, NJ. Composición química, actividad antioxidante in vitro y evaluación cicatrizante in vivo del extracto metanólico de corteza de *Brunfelsia grandiflora* D. Don "chiric sanango". Tesis doctoral. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Unidad de Postgrado de Farmacia y bioquímica; 2012.
3. Hidalgo, O. Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuotánico de la planta *Bacopa procumbens* en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón. Tesis de maestría. México DF: Instituto Politécnico Nacional, Programa Institucional de Biología Molecular; 2010.
4. Villavicencio, Ó. Uso clínico de las plantas medicinales. In OPS , editor. Manual de Fitoterapia. Lima: EsSalud; 2001. p. 347.
5. Arellano, P. El Libro Verde: Guía de Recursos Terapéuticos Vegetales Dongo G, editor. Lima: Editorial del Instituto de Medicina Tradicional; 1992.
6. Mnisterio de Salud y Deportes del Estado Plurinacional de Bolivia. Normas para medicamentos Naturales, Tradicionales y Homeopáticos. In R.M. N° 0013; 2001; La Paz. p. 39.
7. Seneche, J. Estudio Farmacognóstico y Farmacológico de *Muehlenbeckia Volcanica* Benth (Mullaca). tesis de pregrado. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 1956.
8. Gutierrez, JE.; et.al. Efectos sobre la proliferación de fibroblastos y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de plantas medicinales peruanas. Científica. 2008 Julio; 5(3 - 4).

9. Vaisberg, A.; et.al. Evaluación de la actividad cicatrizante de plantas medicinales tradicionales seleccionadas de Perú. *Journal of Ethnopharmacology*. 1997 Febrero; 55(3).
10. Mellado, M.; et.al. Efecto antioxidante de extractos de *Muehlenbeckia hastulata* J. (Poligonácea). *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2012 Marzo; 57(3).
11. Fagundes, L.; et.al. Propiedades farmacológicas del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia plantyclada* (F. Muell.) Meisn. *International Journal of Molecular Sciences*. 2010 octubre 10; 11(10): p. 3942 – 3953.
12. Erazo, S.; et.al. Constituents and biological activities from *Muehlenbeckia hastulata*. *Journal of Biosciences*. 2002 Setiembre; 57(9 - 10).
13. Roco, PA. Valoración del efecto hipotensor de extractos de tallos, raíz y hojas de *Muehlenbeckia hastulata*, Quilo o Voqui negro, en ratas normotensas. Tesis de pregrado. Valdivia: Universidad Austral De Chile, Facultad De Ciencias Veterinaria - Instituto De Farmacología; 2001.
14. Redrobán, KF. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcolicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*). tesis de pregrado. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2012.
15. Antón, JA.; Ayala, C. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcolico de las hojas secas de *Cynanchum formosum* N.B.Br. "Tijeras Tijeras". tesis de pregrado. Lima: Universidad Norbert Wiener, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2011.
16. Contreras M. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto acuoso del fruto fresco de *Capsicum pubescens* R & P "Rocoto". Tesis de pregrado. Lima: Universidad Norbert Wiener, Farmacia y Bioquímica; 2009.

17. Vásquez, G. Estudio fitoquímico y efecto cicatrizante de la raíz de *Rumex cuneifolius* Campdera "Cuturruzaza". tesis de pregrado. Lima: Universidad Norbert Wiener, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2009.
18. Méndez MG, Montal E. Efecto cicatrizante de la pomada preparada con *Dorstenia drakena* L. (Moraceae) en heridas cutáneas. Cirujano General. 2008 Febrero; 30(4).
19. León, B. El Libro Rojo de plantas Endémicas del Perú. Revista Perú Biológico. 2006 diciembre; 13(2).
20. Cialdella, AM.; Cocucci, A. POLYGONACEAE. In Hunziker AT, editor. Flora Fanerogámica Argentina. Buenos Aires: Programa PROFLOA (CONICET); 2007. p. 1 - 44.
21. Ministerio del Ambiente. Flora del Perú Actualización de Datos. [Online].; 2008 [cited 2013 Marzo 26. Available from: http://www.minam.gob.pe/pdf/familias/D_Magnoliophyta_C_Magnoliopsida_O_Caryophyllales_F_POLYGONACEAE.pdf.
22. Gibaja S. Pigmentos naturales quinónicos Lima: Fondo Editorial de la Universidad Mayor de San Marcos; 1998.
23. Pedraza - Peñalosa, P.; Bentacur, J.; Franco - Rosselli, P. Chisacá, un recorrido por los páramos andinos. Segunda ed. Villa CM, editor. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales e Instituto de Investigación Alexander von Humboldt; 2005.
24. Hurtado, J. Animales y Vegetales del Perú. [Online].; 2008 [cited 2013 Noviembre 15. Available from: <http://animalesyplantasdeperu.blogspot.com/2008/10/la-mullaca-muehlenbeckia-volcanica.html>.



25. THE PLANT LIST. The plant list: a working list of all plant species. [Online].; 2010 [cited 2013 Marzo 26]. Available from: <http://www.theplantlist.org/tpl/record/tro-26000312>.
26. ECOTINTES. ECOTINTES. [Online].; 2010 [cited 2013 Marzo 26]. Available from: <http://ecotintes.com/content/es/mullaca>.
27. Kuklinski, C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ediciones Oomega; 2000.
28. Organización de Farmacéuticos Latino - Iberoamericanos. Plantas y piel. Revista de la Organización de Farmacéuticos Latino - Iberoamericanos. 2012 Abril; 22(01).
29. Andrades, P.; Sepúlveda, S. Cicatrización Normal. Santiago de Chile: Hospital clínico Universidad de Chile, Cirugía Plástica esencial; 2007.
30. Ramírez, G. Fisiología de la cicatrización cutánea. Revista Facultad de Salud. 2010 Diciembre; 2(2).
31. O´Rahilly, R. Anatomía de Gardner. Quinta ed. O´Rahilly R, editor. Mexico D.F.: Nueva Editorial Interamericana; 1989.
32. Moore, K.; Dalley, A. Anatomía con orientación clínica. Cuarta ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2003.
33. Klatt, E. Robbins y Cotran. Atlas de anatomía patológica Ariza Fernández A, editor. Madrid: Elsevier España S.A; 2007.
34. Sociedad Argentina de Dermatología. Consenso sobre cicatrización de heridas. In Consenso sobre cicatrización de heridas; 2008; La Paz. p. 41.
35. Grupo de Trabajo de Heridas Crónicas del Servicio Cántabro de Salud. Manual de prevención y cuidados locales de heridas crónicas Cantabria: Publicación del Servicio Cántabro de Salud; 2011.

36. Rubin, E.; Reisner, H. Essentials of Rubin's Pathology. Sexta ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
37. Lock, O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda ed. Lima: Fondo editorial de la PUCP; 1994.
38. Gibaja, S. Guía para el análisis de los compuestos del Carbono Lima: Dirección Universitaria de Biblioteca y publicaciones de la UNMSM; 1977.
39. Hajjahaalipour, F.; et.al.. The Effect of *Camellia sinensis* on Wound Healing Potential in an Animal Model. Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine. 2013 Junio; 10(3).
40. Castrillón Rivera L, Palma Ramos A, Padilla Desgarenes M. Interferencia de las biopelículas en el proceso de curación de heridas. Dermatología Revista Mexicana. 2011 Julio; 3(55).
41. Ferreira, J.; Ferreira, JG. Update in Normal and Pathological Scarring: The Management of Surgical Wounds. International Journal of Cosmetic Surgery and Aesthetic Dermatology. 2002; 4(4).
42. Domingo, D; López - Brea, M. Plantas con acción antimicrobiana. Revista Española de Quimioterapia. 2003 Diciembre; XVI(4).
43. Araujo, J.; Salas, A. Actividad antimicrobiana de plantas. Revista Científica. 2008; 5(6).
44. Inocente, MA. Actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Triplaris americana* L. (Tangarana colorada). Tesis de pregrado. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos , Facultad de Farmacia y Bioquímica ; 2009.
45. Berlanga, V; Rubio, M. Clasificación de pruebas no paramétricas. Cómo aplicarlas en SPSS. REIRE. 2012 Julio; 5(II).

46. Sánchez I. Biodiversidad vegetal en los Andes. In Seminario J, editor. RAICES ANDINAS: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Lima: International Potato Center; 2004. p. 39 - 48.
47. Corporación Andina de Fomento. Biotecnología para el uso sostenible de la Biodiversidad. Capacidades locales y mercados potenciales Quezada F, Roca W, Szauer M, Gómez J, López R, editors. Caracas: Gráficas ACEA; 2005.
48. Pamo - Reyna, O. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. 2009 Julio; 26(3).

IX. ANEXOS

9.1 ANEXO 1

 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
 desde 1918
Museo de Historia Natural
estudiando el Perú
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

CONSTANCIA N° 24-USM-2014

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Planta completa), recibida de **Eva Elizabeth MORANTE MEDRANO** de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener; ha sido estudiada y clasificada como: ***Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: CARYOPHYLLIDAE

ORDEN: POLYGONALES

FAMILIA: POLYGONACEAE


GENERO: Muehlenbeckia

ESPECIE: *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.

Nombre vulgar: "Tictic Quillur".
Determinado por: Blgo. Severo Baldeón.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 05 de enero de 2014


DR. HAYDÉE MONTOYA TERREROS
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Telfs. (511)471-0117, 470-4471
470-7918, 619-7000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
http://museohn.unmsm.edu.pe

9.2 ANEXO 2

Protocolo de investigación con animales

1. Justificación del uso de animales en su estudio:

Para desarrollar un modelo experimental se hace uso de animales de experimentación para lo cual se debe seguir protocolos de manipulación de acuerdo a la sociedad protectora de animales.

2. Animales a utilizar

Mus musculus, "ratón albino", 18 hembras, 18 machos de 2 meses de edad.

3. Procedimientos

- a) Lesión: Incisión de en el lomo de 1 cm de longitud.
- b) Bioseguridad: La limpieza del Bioterio de la Universidad Privada Norbert Wiener la realizará el personal calificado para ello y para el manejo de los animales se emplearán guardapolvo, guantes descartables y gorro desechable.
- c) Manejo de residuos: Serán descartados en el área de desechos biológicos del Bioterio, Laboratorio de Farmacología y Productos Naturales.
- d) Método de eutanasia: Inyección intraperitoneal con pentobarbital sódico.

4. Alojamiento de los animales

- a. Descripción del Bioterio: dimensión 7 x 5 m, paredes acrílicas, piso de porcelana, con instalaciones de agua y desagüe; ventiladores propios con presión positiva, y lámparas fluorescentes tipo luz día.
- b. Condiciones ambientales: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad; con temperatura entre 20 a 25 °C, humedad relativa ambiental del 70%.
- c. Espacio: Jaulas de metal de 12,7 cm de altura, lecho de viruta estéril y bebederos de vidrio.
- d. Procedencia: ratones albinos del Bioterio del Instituto Nacional de Salud, cepa Balb C53.
- e. Alimentación: se administra diariamente y de forma libre pellet y semillas de cebada; agua potable.
- f. Personal: Personal de limpieza capacitado para el mantenimiento del Bioterio.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Lugar De Ejecución	2
1.2 Planteamiento del problema	2
1.3 Objetivos:	2
1.3.1 Objetivo general	2
1.3.2 Objetivos específicos	3
1.4 Hipótesis	3
1.5 Variables	3
II. GENERALIDADES	4
2.1 Antecedentes	4
2.1.1 Estudios efectuados con especies de <i>Muehlenbeckia</i>	4
2.1.2 Estudios efectuados en plantas con efecto cicatrizante	5
2.2 Aspecto Botánico	6
2.2.1 Características de la familia Polygonaceae y géneros <i>Muehlenbeckia</i>	6
2.2.2 Características de la especie <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl	6
2.2.3 Uso tradicional	7
2.3 Aspecto Farmacológico	8
2.3.1 Drogas Tópicas y Cutáneas	8
2.3.2 Piel	8
2.3.3 Herida	13
2.3.4 Tipos de cicatrización	14
2.3.5 Proceso de Cicatrización	14
	63

III. PARTE EXPERIMENTAL	18
3.1 Materiales, equipos, solventes y reactivos	18
3.1.1 Del estudio botánico	18
3.1.2 Del estudio químico	18
3.1.3 Del Estudio Farmacológico	19
3.2 Metodología y procedimiento	20
3.2.1 Del Estudio Botánico	20
3.2.2 Del Estudio Químico	20
3.2.3 Del Estudio Farmacológico	26
IV. RESULTADOS	31
4.1 DEL ESTUDIO BOTÁNICO	31
4.1.1 Clasificación sistemática	31
4.2 DEL ESTUDIO QUÍMICO	31
4.2.1 Prueba de solubilidad y análisis fitoquímico	31
4.3 DEL ESTUDIO FARMACOLÓGICO	34
4.3.1 Del Test de cicatrización	34
4.3.2 Del Estudio anátomo – patológico	36
4.3.3 Del Análisis Estadístico	48
V. DISCUSIÓN	50
VI. CONCLUSION	53
VII. RECOMENDACIONES	54
VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	55
IX. ANEXOS	61
9.1 Anexo 1	61
9.2 Anexo 2	62

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl	7
Figura 2. Esquema de la piel y de sus anejos. ⁽³²⁾	10
Figura 3. Piel normal, vista microscópica. ⁽³³⁾	11
Figura 4. Epidermis, vista microscópica. ⁽³³⁾	12
Figura 5. Cicatrización por primera intención. ⁽³⁶⁾	16
Figura 6. Cicatrización por segunda intención. ⁽³⁶⁾	16
Figura 7. Las fases secuenciales del proceso de cicatrización. ⁽³⁶⁾	17
Figura 8. Preparación del EX - EtOH de las hojas <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”	21
Figura 9. Estudio Botánico y Análisis Fitoquímico	25
Figura 10. Estudio farmacológico: Test de cicatrización	28
Figura 11. Estudio Farmacológico y anátomo – patológico	30
Figura 12. Prueba de Solubilidad del EX - EtOH de las hojas de <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur”	32
Figura 13. Identificación de flavonoides con el reactivo de AlCl ₃ y observación en la lámpara UV.	33
Figura 14. Reconocimiento de flavonoides con el reactivo de Shinoda.	34
Figura 15. Vista macroscópica de la apariencia de la piel de lomo de ratón luego de siete días de tratamiento	35
Figura 16. Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema base (Grupo Control) H&E a 40x	36

Figura 17.	Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema base (Grupo Control)	37
Figura 18.	Corte anátomo – patológico del tratamiento con <i>Croton lechleri</i> L. (Sangre de grado) de Santa Natura (Grupo Estándar) H&E a 40x	38
Figura 19.	Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con <i>Croton lechleri</i> L. (Sangre de grado) de Santa Natura (Grupo Estándar)	39
Figura 20.	Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 5% (Grupo Crema al 5%) H&E a 40x	40
Figura 21.	Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 5% (Grupo Crema al 5%)	41
Figura 22.	Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 10% (Grupo Crema al 10%) H&E a 40x	42
Figura 23.	Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 10% (Grupo Crema al 10%)	43
Figura 24.	Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 15% (Grupo Crema al 15%) H&E a 40x	44
Figura 25.	Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 15% (Grupo Crema al 15%)	45
Figura 26.	Corte anátomo – patológico del tratamiento con la crema del EX – EtOH 20% (Grupo Crema al 20%)	46
Figura 27.	Comparación del proceso de cicatrización en el tratamiento con la crema del EX – EtOH 20% (Grupo Crema al 20%)	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Grupos de estudio del tratamiento con cremas en diferentes concentraciones del EX - EtOH de las hojas de <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl	27
Tabla 2. Prueba de Solubilidad del EX – EtOH de las hojas de <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” (20 mg extracto / 1 mL de solvente).	31
Tabla 3. Análisis fitoquímico del EX – EtOH de las hojas de <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl “Tic Tic Quillur” (20 mg extracto / 1 mL de etanol).	33
Tabla 4. Prueba de Kolmogorov – Smirnov para una muestra	48
Tabla 5. Prueba de ANOVA	49
Tabla 6. Comparaciones múltiples	49