



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA
SALUD**

ESCUELA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS

Evaluación in vivo del efecto cicatrizante de una crema dérmica
óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de
las hojas frescas de *Clonipodiumpulchellum*
“Panizara” en la ciudad de Huacho de Febrero a Julio del 2015

PRESENTADO POR

Bach. MELINA VALVERDE ROJAS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

HUACHO - PERÚ

2015

DEDICATORIA

A esas personas importantes en mi vida, por su apoyo constante y afecto.

Con todo mi cariño esta tesis se las dedico a mi familia; mis padres Valerio y Fortunata, y a mis pequeñas hijas quienes son mi motor para seguir adelante Valeska, Kenya y Chelsea.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Alas Peruanas que me brindó la oportunidad de formarme profesionalmente, y, tanto a mí como a mis compañeros motivarnos para culminar con éxito esta profesión.

Es imposible llevar a cabo una investigación sin el asesoramiento y apoyo constante de diversas personas. A mis asesores Dr. Mario Carhuapoma Yance, Dr. Christian Alvarado Anicama, Mg. Magna Torres y Q.F Guillermo Gallardo quienes con mucho profesionalismo, responsabilidad y paciencia fueron mi guía.

A mis queridos compañeros con los que compartí cinco años en las aulas universitarias pasando momentos gratos, así como preocupaciones, momentos tensos, alegrías, y al ya culminar esta etapa de mi vida, he ganado muchos amigos.

A mis padres por su apoyo constante y la confianza depositada en mí.

Al amor de mi vida y compañero por su comprensión, tiempo, confianza y bondad, a lo largo de estos cinco años.

A todos los que de manera directa e indirecta colaboraron para llegar a este momento gracias.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto cicatrizante de una crema óleo acuosa elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodiumpulchellum* "Panizara". Las hojas de *Clonipodiumpulchellum* se recolectaron de aquellas plantas que crecen en zonas de cultivo en la provincia de Pallasca 3500 msnm, departamento de Ancash. El aceite esencial se obtuvo por destilación con arrastre de vapor de agua. La caracterización de los componentes químicos se realizó mediante el método de la marcha fitoquímica utilizando diferentes reactivos específicos y solventes respectivos. El efecto cicatrizante se comprobó midiendo la fuerza o tensión en gramos que se necesitó para reabrir la herida cicatrizada utilizando un dinamómetro. La experimentación se llevó a cabo en ratones hembras con pesos de 20 – 25g pertenecientes a la cepa Balb/c obtenidos en el bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS).

Los resultados mostraron que la crema óleo/acuosa (O/W) al 10% elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodiumpulchellum* "Panizara" tuvo el mejor efecto cicatrizante comprobado mediante estadística descriptiva e inferencial usando prueba de Levene, ANNOVA oneway o de un factor y prueba post hoc de TUKEY con un nivel de confianza del 95% y error relativo del 5%.

Palabras claves: *Clonipodiumpulchellum*, aceite esencial, crema, cicatrizante, terpenos, piel y antimicrobianos

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the healing effect of oil aqueous cream made from the essential oil obtained from the fresh leaves of ***Clonipodiumpulchellum***"Panizara". Pulchella savory leaves were collected from plants that grow on growing areas in the province of Pallasca to 3500 m, department of Ancash. The essential oil is obtained by stripping steam. The characterization of the chemical components was performed by the method of the phytochemical fly using different respective specific reagents and solvents. The healing effect was tested by measuring the force or tension in grams is needed to reopen the wound healed using a dynamometer. The experiment was conducted in female mice weighing 20 - 25g belonging to the Balb / c strain obtained in the animal facility of the National Institute of Health (NIH).

The results showed that the cream oil / water (O / W) 10% made from essential oil obtained from the fresh leaves of ***Clonipodiumpulchellum*** "Panizara" had the best healing effect tested by descriptive and inferential statistics using Levene test, one way or ANNOVA a factor, and post hoc Tukey test with a confidence level of 95% and relative error of 5%.

Keywords: *Clonipodiumpulchellum*, essential oil, cream, healing, terpenes, skin and antimicrobial

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1. Descripción de la realidad problemática.....	1-2
1.2. Delimitación de la investigación.....	2
1.3. Problemas de la Investigación.....	2-3
1.3.1 Problema principal	
1.3.2 Problemas secundarios	
1.4. Objetivos de la investigación.....	3
1.4.1 Objetivo general	
1.4.2 Objetivos específicos	
1.5. Hipótesis de la investigación y variables.....	4
1.5.1 Hipótesis general	
1.5.2 Hipótesis secundarias	
1.5.3 Operacionalización de variables	
1.6. Diseño de la Investigación.....	5
1.6.1 Tipo de la investigación	
1.6.2 Nivel de la investigación	
1.6.3 Método de Investigación	
1.7. Población y Muestra de la Investigación.....	6
1.7.1. Población	
1.7.2. Muestra	
1.8. Técnicas e Instrumentos de la Recolección de Datos.....	6-14
1.8.1. Técnicas	
1.8.2. Instrumentos	
1.9. Justificación, importancia y limitaciones de la investigación.....	14-15

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación.....	16-18
2.2. Bases teóricas.....	99-44
2.3. Definición de Términos Básicos.....	44-45

CAPÍTULO III: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1. Resultados.....	46-77
3.2. Discusión.....	78-79
Conclusiones.....	80
Recomendaciones.....	81
Referencias bibliográficas.....	82-84
Referencias electrónicas.....	85

Anexos:

- 1. Matriz de consistencia.**
- 2. Otros.**

INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido siempre una fuente indispensable para la obtención de productos beneficiosos en la historia de la humanidad. Las antiguas civilizaciones usaron las especies vegetales tanto para fines alimenticios, como en medicina y cosmética¹¹.

El empleo de diferentes especies vegetales, en el tratamiento de algunos procesos patológicos, es una práctica que aumenta cada día, constituyendo lo que se ha llamado la medicina alternativa. Esto es debido a que, en los últimos años, se ha intensificado la investigación fitoquímica que ha permitido identificar y aislar los principios activos responsables de su actividad farmacológica, dando lugar a que puedan ser presentados en variadas formas de dosificación⁴.

Se han realizado durante muchos años variados estudios farmacognósticos que nos permiten avalar razonablemente la utilización, aunque no siempre ha sido así. En nuestro país, son muchas las plantas autóctonas que, luego de ser estudiadas, han ingresado al arsenal terapéutico y que, al presente, están a disposición del consumidor. Dentro de sus diversos usos podemos encontrar plantas que favorecen la digestión, anticonceptivas, analgésicas, cicatrizantes y antiinflamatorias².

Los aceites esenciales son en su mayoría sustancias terpénicas y fenilpropánicas, que se almacenan en tejidos secretores de los órganos vegetales aromáticos. En recientes estudios se ha demostrado la actividad antibacteriana de diversos aceites esenciales, los cuales pueden contener más de 150 componentes. El Perú es conocido como el tercer país mega biodiverso del mundo, siendo catalogado por algunos científicos como el segundo o primero, porque posee una extraordinaria riqueza biológica, fuente natural de moléculas bioactivas. La diversidad vegetal peruana llega aproximadamente a unas 50 000 especies detectadas, mientras que todo el continente europeo posee 12 000 especies.

Razones nos sobran para maximizar el aprovechamiento sostenible de nuestros recursos naturales, previamente validados científica y tecnológicamente con los respectivos estudios. En cuanto a plantas aromáticas nativas estas son numerosas, una de estas es ***Clonipodiumpulchellum***“panizara”, de la que se reporta virtudes terapéuticas en enfermedades de las vías respiratorias y del aparato digestivo, entre otras².

Por estas consideraciones, se realizó el presente trabajo de investigación que tiene como objetivo general evaluar el efecto cicatrizante de una crema oleo acuosa a base del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de ***Clonipodiumpulchellum***“panizara”.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA^[1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]

En el Perú las poblaciones rurales por el legado ancestral han practicado curaciones de sus males recurriendo a diversos medios fitoterápicos, el problema radica en que si estas prácticas subsisten, especialmente empleando plantas nativas como el ***Clonipodium pulchellum*** en la cura de heridas, debido a las propiedades cicatrizantes de esta planta. La cual se admite como una alternativa de solución de los males de la población frente al limitado acceso de la medicina científica, en otros casos frente a los aspectos culturales y creencia sobre el daño que ocasionan las medicinas.

Al respecto, la naturaleza biológica del organismo, como respuesta natural a las heridas, segrega colágeno a través de la piel cuya acción es reconectar el tejido lesionado cubriendo la herida de tejido seco y duro denominada costra, cuyas secuelas comunes son las cicatrices.

La cicatrización, no es un evento simple en el que están inmersos diferentes procesos que se pueden perturbar por factores ambientales o por la fisiopatología del paciente. Dentro de los casos frecuentes de alteración del proceso de cierre de una herida están la complicación por infección y la falta de autocontrol limitante del proceso inflamatorio que hace que la respuesta sea exagerada y persistente, conduciendo a situaciones patológicas crónicas ya que las respuestas inmune e inflamatoria son claves para un correcto proceso de cicatrización.

Algunas cicatrizaciones son rápidas y en algunos casos son lentas, generalmente se utilizan cremas con principios activos que ayuden a cicatrizar y generar un campo antiséptico. En el Perú tenemos muchas

plantas medicinales y aromáticas con efectos cicatrizantes, como el *Clonipodium pulchellum*, cuyo aceite esencial es un excelente cicatrizante.

1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. DELIMITACIÓN TEMPORAL

Febrero 2015 a Julio del 2015.

1.2.2. DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA

La recolección de la muestra se realizó en la provincia de Pallasca –Ancash (3500 metros sobre el nivel del mar); los ensayos farmacológicos del efecto cicatrizante se realizaron en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas – Filial Huacho y Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Laboratorio de la-Universidad María Auxiliadora.

1.2.3. DELIMITACION SOCIAL

La realización de este trabajo fue aportar alternativas de curación a nuestra población la cual en estos últimos años ha tenido una mayor aceptación en relación a la medicina natural todo esto debido a los resultados obtenidos y el acceso a estos.

1.2.4. DELIMITACIÓN CONCEPTUAL

Efecto cicatrizante, plantas medicinales, crema O/W, herida.

1.3. PROBLEMAS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. PROBLEMA PRINCIPAL

¿Tendrá efecto cicatrizante la crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” en la ciudad de Huacho de Febrero a Julio del 2015?

1.3.2. PROBLEMAS SECUNDARIOS

- a) ¿Cuál es el tiempo de cicatrización de una herida tratada con la crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de ***Clonipodium pulchellum*** “Panizara”?
- b) ¿Tendrá efecto cicatrizante la crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de ***Clonipodium pulchellum*** “Panizara” a diferentes concentraciones?
- c) ¿Cuál es la concentración que presenta mayor efecto cicatrizante de la crema dérmica oleo acuosa elaborada con el aceite esencial obtenida de las hojas frescas de ***Clonipodium pulchellum*** “Panizara”?

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar in vivo el efecto cicatrizante de una crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de ***Clonipodium pulchellum*** “Panizara”.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar el tiempo de cicatrización de una herida tratada con la crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de ***Clonipodium pulchellum*** “Panizara”.
- b) Determinar el efecto cicatrizante de la crema dérmica dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida

de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” a diferentes concentraciones.

c) Determinar la concentración que presenta mayor efecto cicatrizante de la crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara”.

1.5. HIPÓTESIS

1.5.1 HIPÓTESIS GENERAL

La crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a base del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” posee efecto cicatrizante en heridas realizadas a ratones albinos cepa Balb/c.

1.5.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

a) El tiempo de cicatrización de La crema óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” es menor a 7 días.

b) La crema dérmica óleo/acuosa (O/W) a concentración de 3%, 5% y 10% elaborada con el aceite esencial obtenida de hojas frescas de *Satureja pulchella* “Panizara” presenta efecto cicatrizante.

c) La crema dérmica óleo/acuosa (O/W) a una concentración del 10% elaborada con el aceite esencial obtenida de hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” presenta el mayor efecto cicatrizante.

1.5.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DIMENSIONES	MARCO CONCEPTUAL	INDICADORES
Variable Independiente	Concentración porcentual de la crema dérmica elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i> "Panizara"	Crema: Preparado semisólido para el tratamiento tópico. Aceite esencial: mezcla de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico.	- Elaboración de la crema dérmica óleo/acuosa (O/W) a concentraciones de 3%, 5% y 10%. - Screening fitoquímico del aceite esencial - Solubilidad del aceite esencial
Variable Dependiente	Efecto cicatrizante de la crema dérmica óleo/acuosa elaborada con el aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i> .	Cicatrización: proceso biológico mediante el cual los tejidos vivos reparan sus heridas dejando una cicatriz.	- Test de cicatrización. - Heridas con grado de cicatrización.

1.6 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN [8, 9]

1.6.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

-Experimental: Es un tipo de investigación que bien utiliza experimentos y los principios encontrados en el método científico.

- Longitudinal: Es un tipo de estudio observacional que investiga al mismo grupo de gente de manera repetida a lo largo de un período de años, en ocasiones décadas o incluso siglos

- Prospectivo: Posee una característica fundamental, es la de iniciarse con la exposición de una supuesta causa, y luego seguir a través del tiempo a una población determinada hasta determinar o no la aparición del efecto.

- Aplicativo: Busca la aplicación de los conocimientos adquiridos a la vez que se adquieren otros, dependiendo de la investigación que se vaya a realizar.

1.6.2. NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN

Relacional: Estudios en los que se busca entender la relación o asociación entre variables, sin establecer causalidad. No pretende establecer relación causa-efecto sino relación entre eventos que se dan con cierta secuencia 3. Estudios relacionales en el tiempo entre uno y otro. Son estudios de asociación sin dependencia.

1.6.3. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo de acuerdo a la orientación e información requerida es aplicada, experimental y longitudinal, para lo cual se utilizaron 15 ratones albinos cepa BALB/c para determinar el efecto cicatrizante de la crema O/W elaborada a base del aceite esencial obtenidas de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara”.

1.7 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

1.7.1. POBLACIÓN

Ratones Albinos cepa BALB/c

1.7.2. MUESTRA

15 ratones hembra de peso de 20 – 25 g.

Basado en Directrices de la OCDE para los ensayos de productos químicos.

La Directriz original 423 se aprobó en marzo de 1996 y en la directriz 401 inciso ii) Prueba en un sexo preferentemente hembras se considera suficiente utilizar 3 animales en cada paso.

1.8 TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS ^[10, 4, 11, 3, 12, 13]

1.8.1. TÉCNICAS

a) COLECTA DE LA MATERIA VEGETAL

Las hojas de *Clonipodium pulchellum* se recolectaron de aquellas plantas que crecen en zonas de cultivo de la provincia de Pallasca a 3500 msnm, departamento de Ancash.

b) PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Las hojas se mantuvieron a las condiciones climáticas, se realizó una limpieza con agua y secada al aire para retirar la humedad, luego se guardó en una bolsa de papel kraft, hasta su utilización.

c) MARCHA FITOQUÍMICA

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO

Se hizo un extracto acuoso de las hojas de panizara por infusión, se secaron las hojas en la estufa a 50°C, luego se procedió a

triturar con el mortero, se obtuvo 50 gramos y se colocó en un matraz con 100 ml de agua destilada en estado de ebullición durante 10 minutos. Posteriormente se procedió a filtrar el extracto acuoso con papel filtro.

Se analizó la presencia de posibles metabolitos secundarios en cada una de las soluciones obtenidas siguiendo el método descrito por Look y col. Los compuestos analizados fueron los siguientes: esteroides/triterpenoides, alcaloides, quinonas, flavonoides, taninos, saponinas, lactonas, aminoácidos, glicósidos, resinas y compuestos fenólicos.

El extracto acuoso obtenido fue sometido a la identificación de compuestos químicos presentes en ellas mediante reacciones de coloración y/o de precipitación características, empleando para ello reactivos estandarizados.

- **Ensayo de cloruro férrico:** A un 1 mililitro del extracto acuoso se añadió acetato de sodio 0.2 M para neutralizar y 3 gotas de una solución tricloruro férrico al 5% en una solución salina fisiológica. Este ensayo positivo permitió reconocer compuestos fenólicos, resulta positivo con el desarrollo de una coloración rojo-vino.
- **Ensayo de Shinoda:** A un 1 mililitro del extracto acuoso se adicionó 1 mililitro de ácido clorhídrico concentrado 37% p/p y un trozo de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se esperó 5 minutos, se añadió 1 mililitro de alcohol amílico, se mezcló las fases y se dejó reposar hasta que se separó. Este ensayo permitió reconocer la presencia de flavonoides.

- **Ensayo de Borntrager:** A un 1 mililitro del extracto acuoso se adicionó 1 mililitro de hidróxido de sodio 10%, 1 mililitro hidróxido de amonio al 5% en agua. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su separación. El ensayo es positivo para presencia de quinonas cuando la fase alcalina (superior) se colorea de rosado en este caso se reporta (++) o rojo para lo cual se reporta (+++).

- **Ensayo de Dragendorff:** A un 1 mililitro del extracto acuoso se añadió una gota de ácido clorhídrico concentrado 37% p/p (calentar suavemente y dejar enfriar hacia la acidez), se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff. La presencia de alcaloides se detecta por la formación de un precipitado naranja rojizo.

- **Ensayo de Espuma:** En un tubo de ensayo se disolvió al extracto acuoso en 10 mililitros de agua destilada; se agitó por 30 segundos. La aparición de espuma por más de 15 minutos luego de la agitación indica la presencia de saponinas en la muestra.

- **Ensayo de Liberman - Buchard:** A un 1 mililitro del extracto acuoso se añadió el reactivo compuesto por 1 mililitro de Anhídrido acético y 1 mililitro de cloroformo, se dejó resbalar por la pared del tubo de ensayo 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. De ser positiva se producen cambios de coloración (rosa, violeta, azul y verde). Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y esteroides

- **Ensayo de Sal – Gelatina:** A un 1 mililitro del extracto acuoso se añadió 1 gramo de gelatina, 100 mililitros de agua

destilada y 10 gramos de cloruro de sodio (sal). Un precipitado abundante indica presencia de taninos.

- **Ensayo de Antrona** : A un 1 mililitro del extracto acuoso se dejó resbalar una solución de no más de 24 horas de Antrona al 0.01% en ácido sulfúrico concentrado. La presencia de glicósidos se evidencia por un anillo azul verdoso en la interfase.

- **Ensayo de Ninhidrina**: A un 1 mililitro del extracto acuoso se añadió 5 gotas de Ninhidrina 1% y se calentó en un baño de agua hirviendo por unos 5 minutos. Una coloración violeta indica presencia de aminoácidos.

- **Ensayo de Hidroxamato Férrico**: A un 1 mililitro del extracto acuoso se añadió una gota de una solución metanólica 2N de clorhidrato de hidroxilamina y una gota de solución metanólica 2N de hidróxido de potasio. La mezcla se calentó a baño de María, y se aciduló con ácido clorhídrico 0.5N, finalmente se añadió una gota de cloruro férrico al 1%. Se presenta un cambio a color café o violeta cuando se detectan lactonas.

d) EXTRACCIÓN EL ACEITE ESENCIAL DE PANIZARA

La obtención del aceite esencial se efectuó con el método por destilación por arrastre de vapor de agua.

El método consistió en colocar 10 kilogramos de “Panizara” a lo largo del recipiente de metal del equipo extractor de aceite, de tal modo que el material no esté en contacto directo con el agua; luego se calentó hasta el desprendimiento de vapor de agua, a los pocos minutos se observó el paso del vapor de agua conteniendo el aceite esencial a través de los refrigerantes de vidrio, fueron recolectados en una pera de decantación; se dejó

en reposo hasta observar la separación del agua y del aceite, se procedió luego a su decantación. El aceite obtenido fue sometido a desecación con sulfato de sodio anhidro; se agitó por 1 minuto y se apreció el agua en forma cristales con el sulfato en la base del tubo. Posteriormente fue filtrado, se separó el aceite y se depositó en un frasco ámbar estéril y se dejó refrigerar.

e) MARCHA DE SOLUBILIDAD

En 9 tubos de ensayo se colocó 2 gotas del aceite esencial de las hojas de panizara y se le agregó a cada uno 1 ml del solvente respectivo: agua, metanol 99%, acetona 99.5%, cloroformo, etanol al 70%, benceno, hexano, acetato de etilo 0.02M y éter etílico, se agitó y se observaron los resultados.

f) FORMULACIÓN Y PREPARACIÓN DE LA CREMA

FORMULACIÓN DE LA CREMA

🚦 FORMULACIÓN AL 3%

EXCIPIENTES	Cantidad en g.
Lauril sulfato de sodio	5
Propilenglicol	6
Ácido Esteárico	12.5
Vaselina Blanca	12.5
Agua Purificada	12.5
aceite esencial	1.5

🚦 FORMULACIÓN AL 5%

EXCIPIENTES	Cantidad en g.
Lauril sulfato de sodio	5
Propilenglicol	6
Ácido Esteárico	12.5
Vaselina Blanca	12.5
Agua Purificada	11.5
aceite esencial	2.5

✚ FORMULACIÓN AL 10%

EXCIPIENTES	Cantidad en g.
Lauril sulfato de sodio	5
Propilenglicol	6
Ácido Esteárico	12.5
Vaselina Blanca	12.5
Agua Purificada	9
aceite esencial	5

MÉTODO DE PREPARACIÓN

- Se mezcló en un beaker de 50 ml lauril sulfato de sodio, propilenglicol y el agua purificada y se llevó a una temperatura de 60°C conformando la fase acuosa (fase 1).
- En otro beaker de 50 mL se funde el ácido esteárico y vaselina blanca a una temperatura de 65°C conformando la fase oleosa (fase 2).
- Se mezcla con constante agitación la fase 1 y la fase 2 hasta la formación de una crema óleo/acuosa (O/W) y se reserva.
- Para la incorporación del aceite esencial a la formulación la crema estuvo a una temperatura de 30°C realizando una agitación constante.

g) AMBIENTACIÓN O ACONDICIONAMIENTO

Los 15 ratones albinos hembras, cepas BALB/c provenientes del Bioterio del Centro Nacional de Producción de Biológicos (INS), fueron distribuidos al azar en 5 grupos de 3 ratones cada grupo y colocados en jaulas individuales. Se mantuvieron en observación por un periodo de una semana (7 días), verificando la condición óptima de los ratones para el estudio. A dichos animales se les mantuvo en un ambiente ventilado apropiadamente, en jaulas individuales, con alimento balanceado y agua clorada, por un periodo de 7 días previos al inicio de la experiencia.

h) DEPILACIÓN

Después de una semana de ambientarlos en el lugar de trabajo, se procedió a depilarlos con agua tibia y jabón de glicerina depilando en el primer tercio dorsal anterior en un área, aproximada, de 2 cm² inmovilizándolo del cuello y extremidades inferiores.

Finalmente, con la ayuda de gasas húmedas se retiró los residuos de jabón. Posteriormente a la depilación, los ratones se colocaron en sus respectivas jaulas individuales teniendo estos libre acceso a bebida y comida. La depilación se realizó 12 horas antes del procedimiento quirúrgico a fin de descartar cualquier reacción alérgica al jabón.

i) INCISIONES

Después de 12 horas de la depilación, se procedió a anestésiar a los ratones administrándoles una dosis de 50 mg/Kg de pentobarbital sódico vía subcutánea. Se colocó al ratón sobre la mesa de trabajo, desinfectando el área depilada y marcando 2 puntos equidistantes en 1cm y perpendicular al eje longitudinal del ratón (zona de corte). Se realizó el corte sobre la zona indicada. Se cumplió además con condiciones de asepsia.

j) APLICACIÓN DE LAS CREMAS

Obtenido ya la herida realizada, se administró en forma tópica la primera dosis del tratamiento sobre la incisión con la ayuda de un hisopo, para obtener una distribución homogénea sobre la incisión. Se aplicó tanto las formulaciones a base de aceite esencial de *Satureja pulchella*, mientras que el grupo blanco no recibió tratamiento. Se repitió el tratamiento cada 12 horas

en un lapso de 7 días. Se procedió a medir día a día el tamaño de la incisión.

GRUPO	DENOMINACIÓN	DIETA	TIPO AGUA	CANTIDAD RATONES	DURACIÓN TRATAMIENTO
A	Control Negativo	Balanceada	Clorada	3	7 días
B	Control Positivo	Balanceada	Clorada	3	7 días
C	Crema al 3%	Balanceada	Clorada	3	7 días
D	Crema al 5%	Balanceada	Clorada	3	7 días
E	Crema al 10%	Balanceada	Clorada	3	7 días

Leyenda:

Al grupo A: (control negativo), ratones con piel intacta, sin tratamiento.

Al grupo B: (control positivo), ratones con herida sin tratamiento.

Al grupo C: Se administró una capa delgada de la crema al 3% elaborado a base del aceite esencial de *Clonipodium pulchellum* "Panizara".

Al grupo D: Se administró una capa delgada de la crema al 5% elaborado a base del aceite esencial de *Clonipodium pulchellum* "Panizara".

Al grupo E: Se administró una capa delgada de la crema al 10% elaborado a base del aceite esencial de *Clonipodium pulchellum* "Panizara".

k) DETERMINACIÓN DE LA FUERZA DE TENSIÓN

Luego de 7 días de tratamiento, se procedió a realizar la medición de la fuerza de tensión usando un dinamómetro.

I) ANALISIS DE LOS RESULTADOS

El análisis de datos se realizó por el programa SPSS versión 20.0 aplicando pruebas de homogeneidad de varianza (Prueba de Leveane), ANNOVA one way o de un factor y a la prueba estadística Post hoc de Tukey al 95% de nivel de confianza y 5% de error relativo.

1.9 JUSTIFICACIÓN, IMPORTANCIA Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

1.9.1. JUSTIFICACIÓN

La medicina moderna se caracteriza por la utilización de una tecnología cada vez más compleja, y por el uso de drogas sintéticas de producción industrial. Esto ha representado, indiscutiblemente, avances muy importantes en la detección y el tratamiento de numerosas enfermedades y dolencias. Pero, junto con los adelantos, se han originado también diversos problemas. Por ejemplo, el costo de los servicios médicos, que se vuelve cada día más inaccesible para los sectores menos favorecidos de la sociedad. Además, de que la mayoría de los medicamentos tiene efectos colaterales nocivos, especialmente si su uso es prolongado. Posiblemente por estas razones, la Organización Mundial de la Salud-OMS-, definió en 1978, en su 31ª Asamblea General, el lanzamiento de un programa mundial para evaluar y utilizar los elementos y los métodos de la medicina popular.

El presente estudio se realizó para profundizar la investigación en busca de un producto natural sobre la actividad cicatrizante de una crema con aceite esencial de *Clonipodium pulchellum* el cual pretende dar aportes nuevos al conocimiento debido a la elaboración de un producto nuevo, que constituye un producto de reciente elaboración, además que la “panizara” tiene características propias que la diferencia de otras especies como

son digestivas, respiratorias y antisépticas, a esto se sumaría el efecto cicatrizante que quiero demostrar con este trabajo de investigación.

1.9.2. IMPORTANCIA

La presente investigación tiene importancia teórica, práctica, metodológica y social. Prevé dar aportes nuevos al conocimiento debido a la elaboración de un producto nuevo elaborado con el aceite esencial obtenido de las hojas frescas de la ***Clonipodium pulchellum*** “panizara”, la crema dérmica de panizara constituye un producto nuevo en la región y el país como cicatrizante. Su uso se realizará de forma aplicativa en heridas cumpliendo además el tratamiento adecuado en relación a la dosis, frecuencia y tiempo de uso y de este modo favorecer a la sociedad brindándole un producto natural que aporte grandes beneficios a nivel terapéutico.

1.9.3. LIMITACIONES

Se presentaron ciertas limitaciones en el trayecto de la ejecución de esta investigación, como la falta de materiales de laboratorio para realizar la obtención del aceite esencial por arrastre a vapor de agua; pero se pudo realizar en nuestra universidad, en el caso de no contar con algunos reactivos y solventes químicos para realizar el screening fitoquímico y un bioterio adecuado para la parte experimental con los ratones, tuve que realizar los procedimientos en diferentes instituciones académicas como la Universidad Mayor de San Marcos y la Universidad María Auxiliadora.

A pesar de las limitaciones encontradas no fue impedimento para aportar con nuevos conocimientos.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la Investigación [10, 11, 12, 13, 14, 19, 20, 21, 23, 16]

Nacionales

Vargas R. (1942) Realiza el estudio Botánico y Químico de la *Satureja pulchella* (Panizara), en el que demuestra su función estomáquica y digestiva.

Carhuapoma Y. y Col. (2008) Realizan la caracterización química, actividad antioxidante y toxicidad aguda del aceite esencial de *Satureja pulchella* “PANIZARA”, se muestra la composición química del aceite esencial de *S. pulchella*, caracterizando componentes, como: pulegona, cimeno, carvacrol, acetato de bornilo y pineno. Y q este aceite además presenta actividad antioxidante en el modelo del radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hidrazyl) comparado con el Trolox.

Cano C, Bonilla P y Col.(2008) Demuestran la actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *minthostachys mollis* (muña), Se encontraron los siguientes monoterpenos: pulegona, mentona, limoneno y mirceno. El aceite esencial de muña inhibió completamente el desarrollo de *T. tonsurasn*, *T. mentagrophytes* y *M. canis* con ambos métodos de evaluación y dosis, para *C. albicans* se logró un halo de inhibición de 30 mm para el aceite esencial al 100% y de 35 mm al 50%.

Bonilla R.P.E (2009) En su investigación se evaluó la actividad cicatrizante del aceite esencial de *Schinus molle* L. “molle” a diferentes concentraciones, en comparación con un producto comercial. Se

encontró que el aceite esencial del *Schinus molle* L. “molle”, constituido principalmente por monoterpenos y sesquiterpenos, en pomada y teniendo como base vaselina sólida. Los resultados mostraron que el producto posee propiedades cicatrizantes frente a heridas infectadas en ganado vacuno las que sanaban de manera apropiada; así mismo, los experimentos llevados a cabo en ratones de cepa Balb C 53, corroboraron la experiencia mencionada, siendo la concentración al 2% la que presentó mayor poder cicatrizante frente a la pododermatitis y mastitis subclínicas.

Adrianzén P. y Piminchumo J. (2010), determinan las condiciones óptimas de extracción de aceite esencial y contenido de timol de panizara (satureja panicera) del distrito de cabana – ancash, Los aceites esenciales pueden categorizarse en herbáceos (como la panizara) y no herbáceos (Citrus y Semillas de Especies). Los primeros representan un menor volumen pero en general alto precio y el segundo grupo tiene relevancia por sus volúmenes.

Llanos E. (2012), “extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*schinus molle* l.)”, Se demostró *in vitro*, la actividad antimicótica de los aceites esenciales de molle pertenecientes al lote N° 01 (Los Palos) y al lote N° 02 (Tarata), los cuales inhibieron el desarrollo del hongo *Penicillium italicum*, en las dos pruebas desarrolladas.

Internacionales

Holetz al. (2003) demuestran el efecto tripanocida del aceite esencial de *Ocimum gratissimum*, mostrando una excelente actividad a una concentración de 100 microgramo/mililitros.

Cocco R. y Bertoni P. (2005) demuestran que el aceite esencial de ajo aplicado a un canino con herida abierta ayuda a la formación de tejido regenerador al cabo de 21 días.

Santoro et al. (2007) ensaya la actividad antimicrobiana y tripanocida de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*, mostrando una alta bioactividad en los estadios de epimastigote y tripomastigotes. Los marcadores moleculares del aceite esencial de estas plantas vienen a ser el carvacrol y timol, respectivamente; se consideran como las moléculas de potente acción biocida y antimicrobianos.

Cañellas M, Espada N, Ogalla J (2008), Estudian al aceite de rosa mosqueta en cicatrices postquirúrgicas. Concluyendo que la aplicación del ARM refinado desde el mismo momento posquirúrgico no es aconsejable ya que provoca un exceso de maceración, El ARM refinado no acorta el tiempo de cicatrización, La aplicación del ARM refinado mejora el proceso de cicatrización, consiguiendo una cicatriz mínima, EL ARM puro no es estable en el tiempo produciendo cambio de coloración y olor, El ARM refinado es estable en el tiempo.

Alva A. (2009) Demuestra el efecto cicatrizante de de aceite esencial en una pomada de *Schinus molle L.* en ganado Vacuno aplicando en heridas abiertas.

Alonso N. (2009), demuestra la actividad antioxidante de Satureja macrostema, debido a su contenido fenólico y presento una actividad de captura del radical DPPH debido a su composición de flavonas.

2.2 Bases Teóricas ^[25, 26, 11, 10, 1, 15, 27, 28, 3, 13]

2.2.1 Generalidades de la especie

La panizara es una planta aromática muy empleada en la medicina tradicional del norte del Perú, principalmente por

Cajamarca, Ancash y La Libertad. Se usa para problemas de la vía respiratoria, como broncodilatador y expectorante. Es carminativa y antiflatulenta. Se emplea también en baños combinando con otras hierbas medicinales.

Presenta tallo erecto, ramoso, destacando por su abundancia de pelos glandulares, es algo leñoso. Sus hojas son pilosas, simples, enteras o partidas, opuestas o decusadas, en las hojas abundan los pelos y las escamas glandulares que son ricos en aceites esenciales y son muy aromáticas. El haz es de color verde intenso y al tacto es un tanto áspero. En el envés se aprecia capas de pelos tectores de color blanco, da la impresión de tocar una franela, presenta nervaduras bien arraigadas de color oscuro, están cubiertas de estos pelos glandulares y tectores que son pluricelulares. Las flores suelen ser axilares, de color anaranjado intenso o rojizo jaspeados, el cáliz es gamosépalo por que posee sus sépalos soldados, corola es gamopétala. Posee un ovario súpero. Fruto tetraquenio.

Frecuente en laderas abiertas y rocosas, también a orillas y acequias, quebradas arcillosas-rocosas, bordes de carreteras. Terrenos boscosos y arcilloso-pedregosos ubicados entre los 1270- 3850 msnm, en los departamentos de Cajamarca, Ancash y La Libertad.

2.2.1.1 Taxonomía

Reino	: <i>Plantae</i>
División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Magnoliopsida</i>
Orden	: <i>Lamiales</i>
Familia	: <u><i>Lamiaceae</i></u>
Género	: <i>Clonipodium</i>
Especie	: <i>Clonipodium pulchellum</i>
Nombre vulgar	: “panizara”



Fig. N° 1 *Clonipodium pulchellum* “panizara”

2.2.1.2 Estudios fitoquímicos de *Clonipodium pulchellum*”

Se encuentra en las hojas y tallos tiernos, el aroma es muy intenso y perdurable, es excelente para fragancias y fitocosméticos. Nuestras investigaciones permiten caracterizar las constantes físicas del aceite esencial y es como sigue: rendimiento 1,50 %v/p, densidad 0,9800 g/mL, índice de refracción 1,404, color amarillento verduzco. Los componentes del aceite esencial son pulegona, cimeno, carvacrol, acetato de bornilo, pineno, etc.^[6,10]

2.2.1.3 Estudios farmacológicos de *Clonipodium pulchellum*

En nuestros estudios la panizara ha mostrado marcada actividad antioxidante debido a sus metabolitos presentes en el aceite esencial.

Además el extracto hidroalcohólico de las hojas contiene muchos componentes fenólicos, los cuales también son antioxidantes potentes.

El aceite esencial de *C. pulchellum* presenta actividad antioxidante en el modelo del radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hidrazyl) comparado con el Trolox. En este modelo todas las moléculas del aceite esencial actuarían en sinergismo, potenciando su capacidad antirradicalaria, dando una protección a las macromoléculas biológicas, como las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos.

Se ensayó su toxicidad aguda oral del aceite esencial en ratones albinos, mostrando efectos fisiológicos de depresión profunda, incoordinación motora, respiración acelerada, piloerección, arrastre del tren posterior, sedación y reestablecimiento de la mayoría de los animales tratados. Murieron 6 ratones tratados a 2000 mg/kg, en la observación macroscópica de los principales órganos: corazón, riñón, bazo, hígado, no se apreciaron diferencias significativas de toxicidad frente al control.

La DL₅₀ (dosis letal media) determinada para el aceite de “panizara” ha sido 777,19 mg/kg, siendo ligeramente toxica según la tabla de Williams, que indicaría que dicha concentración mata al 50% de los ratones en un experimento farmacológico

2.2.2 Plantas aromáticas y aceites esenciales

Las plantas aromáticas son aquellas especies vegetales que contienen en diversos tejidos secretores aceites esenciales, que en la actualidad se definen como “aceites esenciales” las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables con agua o en corriente de vapor, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria

cosmética (perfumes y aromatizantes), alimentaria (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (principios activos y saborizantes). Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de más de 100 componentes que pueden tener la siguiente naturaleza química: compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos) y fenilpropanoides.

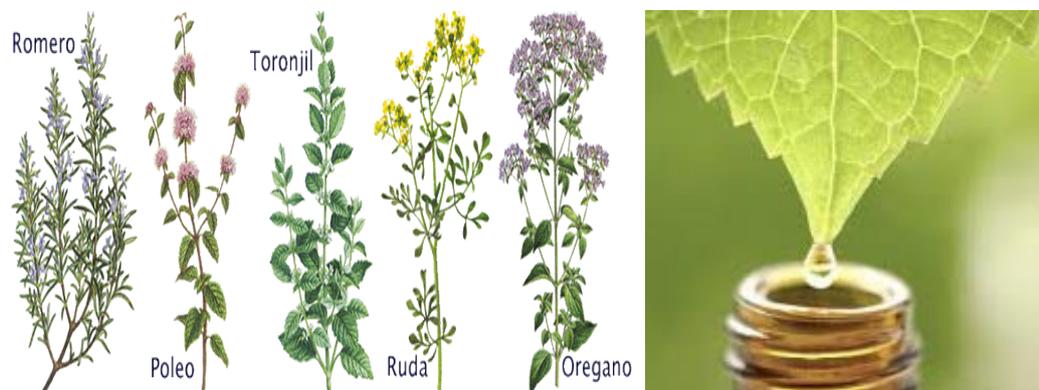


Fig. 2 plantas aromáticas y aceites esenciales

2.2.3 Destilación por arrastre de vapor de agua

Se selecciona este proceso cuando se trata de drogas vegetales frescas (menta, hierbabuena). Se cosecha la parte de interés del vegetal y se coloca en la cámara extractora. No es necesario en este caso hacer una extracción previa porque el material no ha perdido la humedad natural. En el balón se coloca agua que se calienta hasta ebullición, el vapor atraviesa por la cámara arrastrando las esencias, un refrigerante condensa el agua y la esencia que se recoge en las ramas colectoras. Siendo el aceite esencial poco soluble en agua éste se separa formando una capa oleosa sobre el agua a su vez que el agua contiene una porción disuelta de la esencia y se conoce como "agua aromática". Utilizando un aparato de destilación continua por arrastre de

vapor de agua al extraerse entre 100 a 150 gr. de planta fresca se obtiene un rendimiento de 0,1 a 0.5 ml de esencia. Cuando éste es muy bajo se agrega éter etílico a las ramas colectoras para retener la esencia y simplificar la separación. Durante la destilación ciertos componentes de las esencias tienden a hidrolizarse, mientras que otros se descomponen a elevada temperatura. Es por eso que la destilación por vapor directo es ideal dado que permite la máxima difusión posible del vapor de agua a través de las membranas vegetales, reduciendo al mínimo la hidrólisis y la descomposición.



Fig. 3 Destilación por arrastre a vapor de agua

2.2.4 Cremas dérmicas

Son formas farmacéuticas constituidas por dos fases, una lipofílica y otra acuosa. Tienen consistencia blanda y flujo newtoniano o pseudoplástico por su alto contenido acuoso.

Una diferencia entre la crema y la pomada es que la pomada fluye con dificultad y las cremas fluyen fácilmente, además las pomadas son siempre monofásicas.

Clasificación

•**Hidrófobas (Emulsiones W/O).** La fase continua o externa es la fase lipofílica debido a la presencia en su composición de tensoactivos tipo W/O.

•**Hidrófilas (Emulsiones O/W).** La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de tensoactivos tipo O/W, tales como jabones sódicos o de alcoholes grasos sulfatados y polisorbatos, a veces combinados en proporciones convenientes con tensoactivos tipo W/O.

Emulsión Aceite en Agua (O/W). En casos de piel normal o presencia de ligera resequedad se recomienda el uso de una emulsión de O/W ya que las gotitas oleosas de la preparación se sitúan dentro de la fase acuosa, se absorben rápidamente en la piel sin dejar un rastro oleoso, la parte acuosa se evapora generando un efecto refrescante, la fase oleosa engrasa la piel y son solo levemente oclusivas.

Emulsión Agua en Aceite (W/O). En casos de piel seca o dermatosis crónica se recomienda el uso de emulsiones de este tipo. La fase interna consiste en gotitas de agua rodeadas por la fase oleosa, no se absorben con tanta rapidez en la piel, tienen un efecto oclusivo que reduce la pérdida trans-epidérmica de agua en la piel. Son adecuadas para liberar principios activos en la piel y no pueden ser lavadas con agua sola.

Características que debe tener una crema:

1. Buena tolerancia (no irritación, o sensibilización).
2. Inercia frente al principio activo (compatibilidad física y química), así como frente al material de acondicionamiento.
3. Estabilidad frente a factores ambientales para garantizar su conservación.
4. Consistencia conveniente para que su extensión sobre la piel sea fácil y puedan dispensarse en tubos.
6. Caracteres organolépticos agradables.
7. Capacidad para incorporar sustancias solubles en agua y en aceite.

8. Capacidad para actuar en piel grasa o seca
9. Facilidad para transferir rápidamente a la piel las sustancias activas.
10. No deshidratar, ni desengrasar la piel.

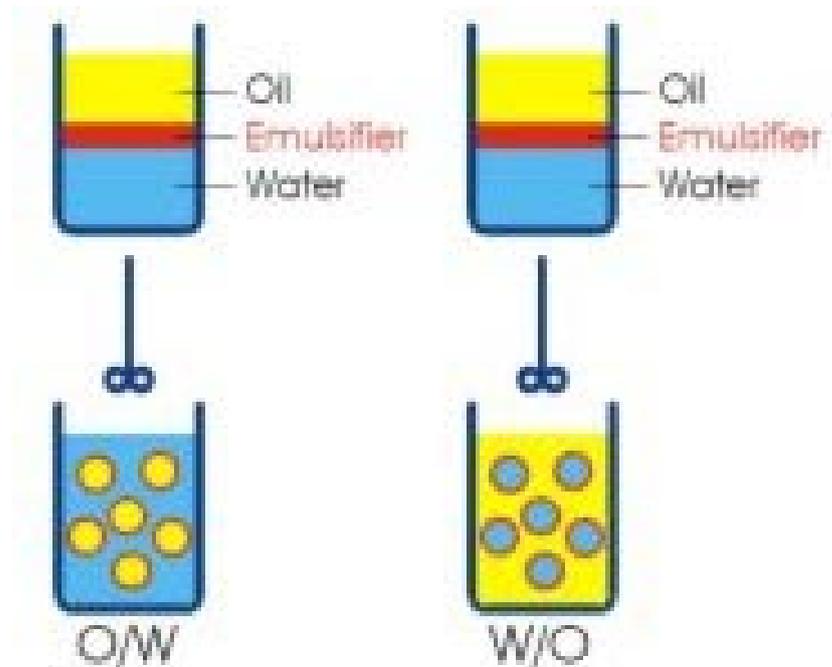


Fig. 4 Crema dérmica

2.2.5 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA PIEL

[17, 6, 7, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

La piel, tejido de protección flexible y elástico, recubre toda la superficie del cuerpo y representa aproximadamente el 5% del peso corporal. Desempeña un papel importante en la regulación térmica, en la detección de los estímulos exteriores y en la excreción de materiales de desecho y toxinas. Se encuentra constituida estructuralmente por tres capas diferenciadas: Epidermis (epitelio). Dermis (matriz de tejido conectivo) e Hipodermis (tejido adiposo), incluidas dentro de estos tres estratos se encuentran algunas estructuras importantes como son los anexos cutáneos: glándulas sudoríparas, eccrinas y apocrinas, folículos pilosos y glándulas sebáceas; además contiene vasos

sanguíneo, vasos linfáticos, nervios y estructuras nerviosas especializadas.

La piel es el mayor órgano del cuerpo y constituye la principal barrera física entre el organismo y su medio externo. Además, la piel participa activamente en las defensas del huésped, siendo capaz de generar y apoyar las reacciones inflamatorias e inmunitarias locales.

2.2.5.1 EPIDERMIS

La epidermis es un epitelio pavimentoso estratificado, de un espesor medio de 20 mm, cuyas células se diferencian lentamente desde el interior hasta la superficie por el proceso de queratinización.

Este epitelio es un tejido compuesto por células adyacentes sin sustancias intracelulares que las separen, es avascular (no contiene vasos) pero crece sobre un tejido conectivo subyacente rico en vasos, del que lo separa una capa extracelular de sostén, la membrana basal.

Las principales poblaciones celulares presentes en la epidermis son los queratinocitos, los melanocitos, las células de Langerhans epidérmicas y las células T intraepiteliales.

Los queratinocitos y melanocitos no parecen ser mediadores importantes de la inmunidad adaptativa (mediada por linfocitos estimulada por agentes infecciosos, con especificidad por macromoléculas y con propiedad de memoria para responder ante el mismo microorganismo), aunque los queratinocitos producen diferentes citoquinas que contribuyen a las reacciones inmunitarias innatas y a la inflamación cutánea.

2.2.5.2 DERMIS

La dermis es un tejido conjuntivo fibroso de un espesor medio de 3-5 mm, cuya función principal es la nutrición de la epidermis. Está dividida en dos capas bien definidas, según la importancia cualitativa y la organización espacial de las fibras de colágeno y elastina: la dermis reticular (tejido denso) y la dermis papilar (contiene los plexos sanguíneos y linfáticos).

Este tejido conectivo se caracteriza por contener células y sustancias extracelulares, en su mayoría secretadas por uno de los tipos celulares (los fibroblastos) y que en condiciones normales constituyen una porción del tejido mayor que las células. En conjunto, las sustancias extracelulares se denominan matriz extracelular (MEC) compuesta por fibras incluidas en una matriz amorfa que contiene líquido tisular. Las fibras del tejido conectivo se dividen en tres tipos, fibras de colágeno, reticulares y elásticas. La matriz amorfa está compuesta por glucosaminoglicanos y proteoglicanos que forman geles muy hidratados en los cuales están incluidos los demás componentes. En la matriz extracelular también hay glucoproteínas adhesivas, como por ejemplo fibronectina y laminina. Los numerosos tipos celulares se clasifican células fijas o migrantes.

Dentro de las células que actúan en la respuesta inmune encontramos en la dermis linfocitos T predominantemente en una ubicación perivascular, así como macrófagos diseminados

2.2.5.3 HIPODERMIS

Es un tejido conjuntivo flojo, contiene numerosos panículos adiposos así como los glomérulos de las glándulas sudoríparas. Constituye una capa grasa subcutánea que

sirve de amortiguación contra traumas, al igual que de barrera térmica.

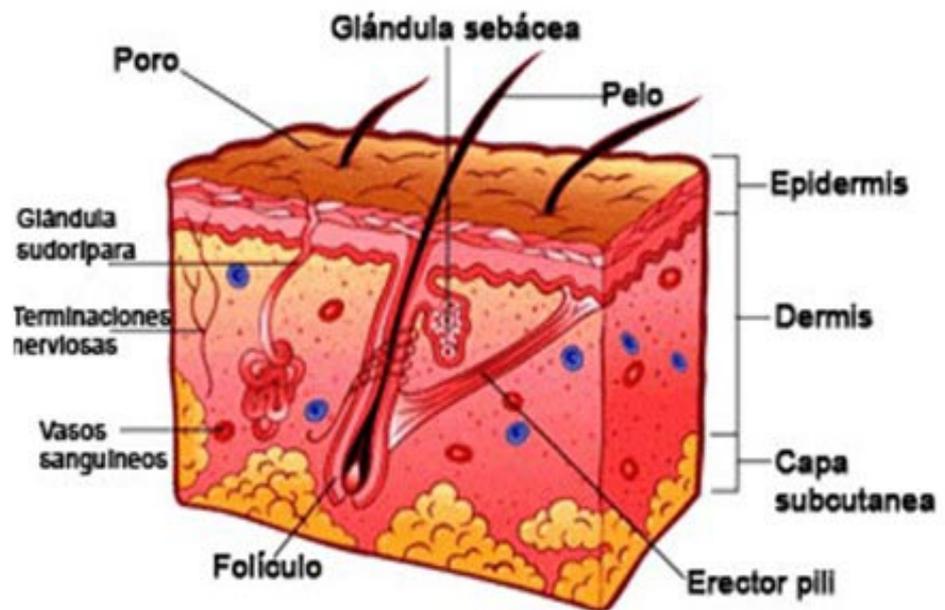


Fig. 5 Capas de la piel

2.2.6 LA CICATRIZACIÓN Y LA RESPUESTA INFLAMATORIA

El proceso inflamatorio tiene efectos directos sobre la cicatrización normal y anormal, según sea la relación entre la respuesta proinflamatoria y antiinflamatoria. Cuando la inflamación es mantenida como una respuesta regulada y orquestada, la cicatrización probablemente tenga un desarrollo eficaz y normal (Garner, 2003).

La inflamación es una respuesta protectora cuya intención es eliminar la causa inicial de una lesión celular, así como las células y los tejidos necróticos resultantes de la lesión original, pero aunque la inflamación ayuda a eliminar las infecciones y otros estímulos nocivos y da comienzo a la reparación, la reacción inflamatoria y posterior proceso reparador pueden causar daño considerable.

Los componentes de la reacción inflamatoria que destruyen y eliminan los microbios y tejidos muertos son capaces de lesionar también los tejidos normales. Por consiguiente la lesión puede

conducir a reacciones inflamatoria crónicas donde la respuesta es muy intensa, prolongada o inapropiada (Kumar y col., 2005).

La inflamación puede ser aguda o crónica. La aguda tiene un comienzo rápido y corta duración, que va de pocos minutos a varios días y se caracteriza por la exudación de líquido y proteínas plasmáticas y acumulación predominantemente de leucocitos polimorfonucleares.

La inflamación crónica puede ser mas insidiosa, tiene una mayor duración (de días a años) y puede ser tipificada por el aflujo de linfocitos y macrófagos con proliferación vascular y fibrosis (cicatrización) acompañantes.

2.2.6.1 INFLAMACION AGUDA (MIGRACION LEUCOCITARIA Y ACTIVIDAD OXIDATIVA)

La inflamación aguda es una respuesta rápida estimulada por acción de microbios, traumatismos, necrosis tisular, cuerpos extraños o por reacciones de hipersensibilidad (reacciones autoinmunes), en la que hay una liberación de leucocitos y proteínas plasmáticas en el sitio de la lesión.

En general se presentan tres componentes principales:

- Modificación en el calibre de los vasos sanguíneos, con el correspondiente aumento del flujo de sangre a la zona (vasodilatación).
- Cambios estructurales en la microvasculatura que permiten a las proteínas plasmáticas abandonar la circulación (aumento de la permeabilidad vascular).
- Migración de los leucocitos, principalmente neutrófilos (PMNs), de la microcirculación y acumulación en el foco de lesión (reclutamiento y activación celular).

Una vez que los leucocitos han sido reclutados en el sitio agredido, deben activarse para llevar a cabo sus **funciones** tales como:

Fagocitosis de las partículas, eliminación de sustancias agresoras. Esta etapa consta de tres etapas:

1) Reconocimiento y unión a antígenos; 2) interiorización y formación de la vacuola fagocítica y 3) destrucción y degradación del material ingerido.

Producción de sustancias que destruyen los microbios y eliminan los tejidos muertos; estos productos leucocitarios incluyen enzimas lisosómicas como la elastasa y especies de oxígeno reactivas (ROS). La fagocitosis estimula un estrés oxidativo caracterizado por el aumento súbito del consumo de oxígeno, catabolismo del glucógeno, aumento de la oxidación de la glucosa y producción de ROS.

Producción de mediadores que amplifican la reacción inflamatoria, incluidos los metabolitos del ácido araquidónico y citoquinas (Cotran y col., 1999), especialmente los macrófagos, que estimulan aun mas la inflamación y tiene importantes efectos sistémicos (Kumar y col., 2005).

En todas las situaciones, los mecanismos por los cuales los leucocitos reaccionan en la defensa antimicrobiana son los mismos implicados en el daño de los tejidos normales, porque una vez activados los leucocitos, sus mecanismos efectores no distinguen entre el agresor y el huésped. Durante la activación y fagocitosis, los leucocitos liberan productos tóxicos no solo al interior del fagolisosoma, sino que también al espacio extracelular. Dentro de estas sustancias están con mayor relevancia las enzimas lisosómicas presentes en los gránulos y las especies de oxígeno reactivas (ROS) y del nitrógeno (NO) (Kumar y col., 2005).

En una herida abierta expuesta constantemente a factores exógenos, los leucocitos se pueden convertir fácilmente en

agentes agresores y ser una de las razones de una cicatrización lenta o deficiente.

2.2.6.2 INFLAMACION CRÓNICA

La inflamación crónica es de duración prolongada (de semanas a meses y años) en la que se observan simultáneamente:

Infiltración con células mononucleares, incluidos macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.

Destrucción tisular, en gran medida inducida por los productos de células inflamatorias. Reparación, que implica, entre otros procesos, la proliferación de nuevos vasos (angiogénesis) y fibras.

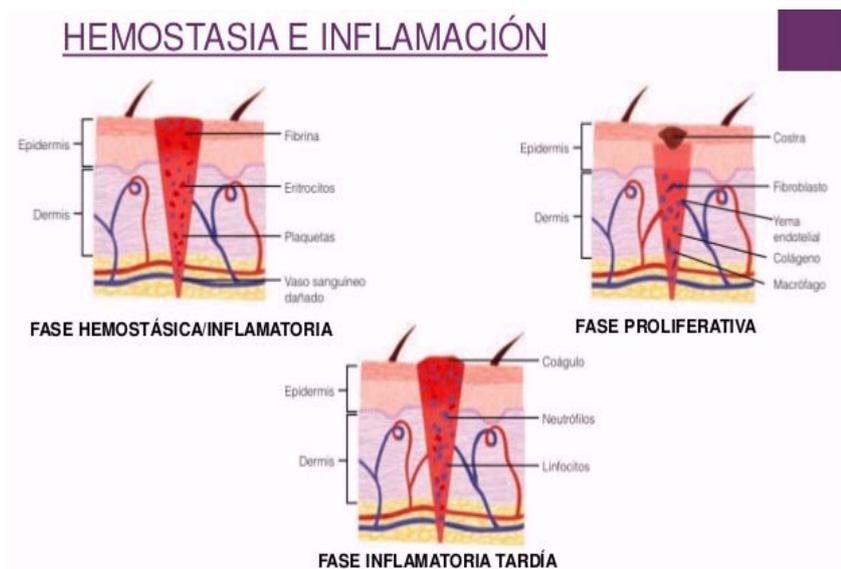


Fig. 6 fases de la inflamación de heridas

2.2.7 PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN PIEL

La cicatrización de heridas abiertas es un proceso complejo que requiere de una serie de fases que se encuentran entrelazadas, que depende una de la otra y que no están claramente delimitadas. Luego de que se presenta un rompimiento en la integridad epitelial de la piel que puede estar acompañada de la disrupción de la estructura y función del tejido, se inicia

inmediatamente un proceso de reparación que involucra una fase de hemostasis y respuesta inflamatoria, una fase de proliferación y una fase de remodelamiento (Li y col.,2007).

En la hemostasis, para muchos autores inmersa dentro de la fase de inflamación, se da la respuesta vascular donde la microvasculatura del tejido alterado permite la extravasación de sangre dentro de la herida e inicia la respuesta para la coagulación y vasoconstricción, el resultado es un coágulo formado por agregación plaquetaria, infiltración de leucocitos con variadas funciones en liberación de antimicrobianos y citoquinas, los cuales son claves en la respuesta inflamatoria.

2.2.7.1 FASE INFLAMATORIA

La inflamación se divide en dos etapas, temprana y tardía, dependiendo del tiempo y duración de la respuesta y el tipo de células inflamatorias involucradas (Enoch y col., 2005).

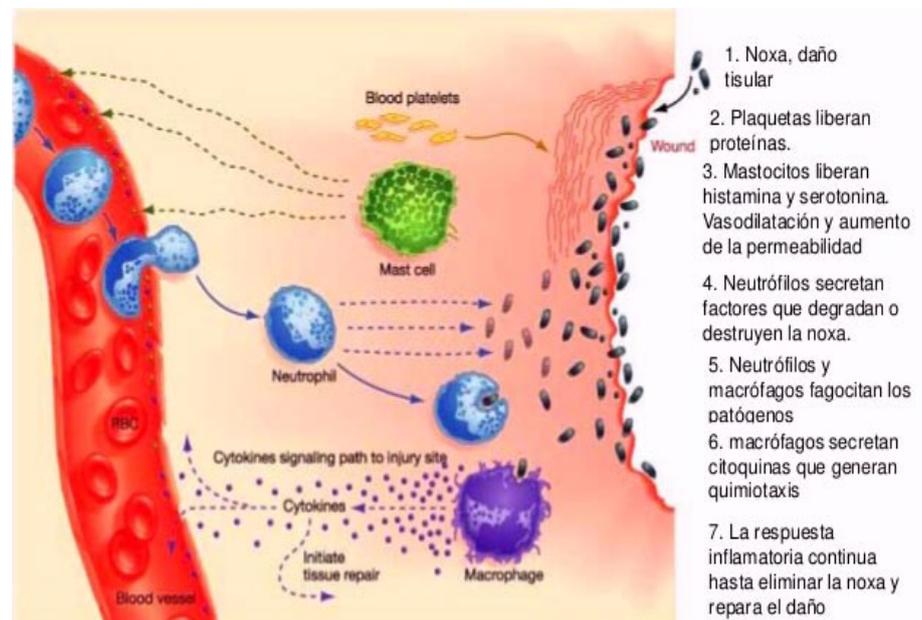


Fig. 7 Inflamación aguda

2.2.7.1.1 En la fase temprana

son atraídos los granulocitos neutrófilos (polimorfonucleares) (Guyton, 2003) y los monocitos a la región de la herida; estas células van seguidas

en poco tiempo de linfocitos controlando la proliferación bacteriana incitados por inmunoglobulinas, alcanzando un máximo de granulocitos entre las 12 y 48 horas siguientes a la generación de la herida y disminuyendo después de tres (3) días luego de que la contaminación bacteriana ha sido eliminada. En esta fase de inicio se presentan además diferentes factores de crecimiento tales como factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, siglas en ingles), factores plaquetarios, factor transformador del crecimiento β (TGF β), histamina, proteasas, leucotrienos (LT) y citoquinas (interleuquinas) (Li y col., 2007) que hacen parte de la respuesta inmunológica y que a su vez desencadenan diferentes cascadas de inflamación que favorecerán fases posteriores de la cicatrización.

2.2.7.1.2 La fase tardía (favorece tres fases)

Luego de la formación del coágulo y la consiguiente respuesta vascular, la herida contiene un buen número de elementos para combatir la migración microbiana y eliminar los agentes extraños y es durante este periodo donde la respuesta inflamatoria da inicio para favorecer la restauración del tejido, en parte debido a que el coágulo que es un compendio de fibrina, fibronectina, vitronectina, factores de crecimiento y trombospondina, proveen los elementos para la migración celular y consecuente formación de la matriz provisional (Enoch y col., 2005) en una etapa posterior llamada proliferación. Durante este último periodo inflamatorio las células basales del borde inician la actividad mitótica y hasta aquí se

puede entender que termina una fase temprana de la inflamación (Enoch y col., 2005).

Después de esta fase los monocitos declinan y los macrófagos (derivados de los monocitos) predominan. Los macrófagos fagocitan, digieren y matan organismos patógenos, destruyen tejido de desecho, además favorecen la presencia de especies de oxígeno reactivas (ROS) y proteínas enzimáticas e inducen la angiogénesis y la formación de tejido de granulación por ser importantes mediadores de factores de crecimiento incluyendo factor de crecimiento endotelial vascular (Li y col., 2007) y la producción primaria del factor de crecimiento epidérmico (EGF). El EGF es un agente mitogénico para keratinocitos y fibroblastos (Li y col., 2007) por lo que se le hace responsable de la proliferación y formación de la matriz extracelular (MEC) y reclutamiento endotelial (Kumar y col., 2005) para angiogénesis y liberación de enzimas proteolíticas (como colagenasa). Durante esta fase de inflamación se producen y controlan las fibras de colágeno tipo III (Enoch y col., 2005).

a) Fase Proliferativa

La fase de inflamación provee los elementos necesarios para la fase de proliferación en la cual predomina la actividad celular. Los eventos más representativos dentro de esta fase son la creación de una barrera permeable (reepitelización), el reestablecimiento del suministro de sangre y oxígeno (angiogénesis) y reforzamiento del tejido dermal (fibroplasia) (Li y col., 2007).

Esta etapa se caracteriza por la migración de fibroblastos, la deposición de la matriz extracelular provisional (MEC) y formación del tejido granular. Con el avance de la fase proliferativa la matriz provisional (fibrina-fibronectina) es reemplazada por tejido granular con colágeno tipo I predominantemente (Enoch y col., 2005).

En esta etapa proliferan predominantemente los fibroblastos los cuales producen una variedad de sustancias esenciales (factores de crecimientos) para la reparación de la herida que incluyen glicosaminoglicanos (GAG) y colágeno (Wayne y col., 1998). Los GAG son importantes constituyentes MEC y juegan un importante rol en la deposición y agregación de fibras como colágeno, fibrina, fibronectina y ácido hialurónico, lo que se relaciona con la fuerza de tensión del sitio. Estos constituyentes de la MEC provisional contribuyen a la formación del tejido de granulación y sirven de andamio para la migración de células (Singer y Clark, 1999). La MEC es gradualmente reemplazada con una matriz de colágeno y luego de que esta última ha sido depositada en la herida, los fibroblastos paran la producción de colágeno. Por todo lo anterior los fibroblastos son responsables de la síntesis, deposición y remodelamiento de la MEC y a su vez esta última ejerce un efecto sobre la disponibilidad de fibroblastos (Singer y Clark, 1999).

b) Neovascularización

La formación de nuevos vasos sanguíneos es necesaria para la formación del tejido de granulación. La angiogénesis es un proceso complejo que requiere que en la MEC migren y se reproduzcan por mitosis células endoteliales (Singer y Clark, 1999), por lo general inicia con la activación de células endoteliales de vasos adyacentes a la herida. (Li y col., 2007)

Existen diferentes moléculas que estimulan la angiogénesis incluyendo en esta lista el factor de crecimiento endotelial vascular (VEFG), TGF β , angiogenina, angiotropina, angiopoyetina, trombospodina, adicionalmente a los factores de neovascularización, existen diferentes moléculas de adhesión que facilitan la unión célula - célula y célula – MEC como ICAM-1, ICAM-2, el CD31 o también conocida como molécula de adhesión de células epiteliales y plaquetas 1 (PECAM-1), la molécula de adhesión de leucocitos y endotelio (ELAM-1) y la molécula de adhesión vascular (VCAM-1) y el CD34 que sirven demarcadores de la angiogénesis (DeLisser y col., 1997; Mutsaers y col., 1997; Mahmoud, 2007).

c) REEPITELIZACION

Es un proceso de restauración de la epidermis luego de una agresión a la piel. Este generalmente involucra varios procesos, incluyendo la migración de células epidermales adyacentes a la herida (Figura 8), la proliferación de los queratinocitos que formarán la epidermis y la diferenciación del neoepitelio en la capa

estratificada y la capa basal restaurada que conecta la dermis con la epidermis (Li y col., 2007).

Migración de células adyacentes Células en división por mitosis

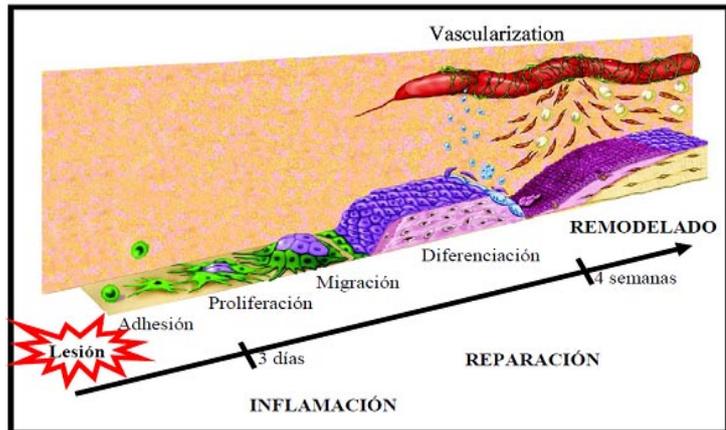


Figura 8. Migración células epidermales.

Varios elementos están implicados en la migración de queratinocitos incluyendo la matriz extracelular, receptores de integrinas, matriz de metaloproteinasas (MMPs) y factores de crecimiento. En principio la MEC formada por fibrina, fibronectina y colágeno tipo V favorecen la migración de queratinocitos a la herida junto con las MMP que además degradan colágeno. Luego de esto se inicia la proliferación hacia el centro de la herida y diferenciación de la neoepidermis (citoqueratinas 1 y 10), la dermoepidermis (laminina 5 y colágeno tipo IV) y la restauración de la membrana basal (Li y col., 2007)

Los marcadores de diferenciación típicos de esta etapa pueden ser la forma de célula (la elongación y la longitud creciente de célula), la disminución en las cantidades de mitocondrias, la disminución en la dimensión de núcleos, una densidad más alta en la red de tono filamentos, el

aumento del contenido de lípidos neutros y de citoqueratinas de alto peso molecular, con el predominio de diferenciación específica de citoqueratinas CK1 y CK10, acompañado por una disminución en citoqueratinas de bajo peso molecular 5 y 14 (Houghton y col., 2005).

d) FASE DE REMODELAMIENTO

En la fase de remodelamiento, luego de la formación de la costra (formada por fibrina y fibronectina principalmente) y la consecuente unión de los bordes de la herida (según el tipo de cicatrización), la síntesis y remodelación de la matriz extracelular se inicia por la formación y degradación de colágeno IV a colágeno tipo I que constituye el 80% y colágeno tipo III que es aproximadamente el 10% del peso seco de la dermis humana y es la principal proteína que provee estructura, fuerza y rigidez al tejido dermal.

En esta fase final se disminuye la actividad de las metaloproteinasas y consecuentemente aumenta la actividad de los inhibidores de las metaloproteinasas, hay una reducción en la densidad de macrófagos y fibroblastos al igual que se detiene la migración de factores de crecimiento desde los capilares, disminuye el tamaño de la herida y aumenta la fuerza de contracción del tejido. Finalmente, dentro del tejido formado por colágeno, elastina y otros compuestos de la matriz extracelular cierran la herida y permiten la maduración de la cicatriz

aumentando la fuerza de tensión (Enoch y col., 2005).

2.2.8 OTROS FACTORES RELACIONADOS CON CICATRIZACIÓN

2.2.8.1 Características Antimicrobianas

Las heridas abiertas están particularmente propensas a infecciones especialmente por bacterias que proporcionan un punto de entrada para infecciones generalizadas. Las heridas infectadas sanan con menor rapidez y a menudo resultan exudados desagradables que junto con toxinas producidas conducen a una concomitante muerte de células regeneradas. Actividades antibacterianas y antifúngicas de los tratamientos tradicionales pueden prevenir estos acontecimientos y pueden ser la razón de su uso en el tratamiento de heridas (Houghton y col., 2005).

2.2.8.2 Potencial Antiinflamatorio

Cuando ocurre una agresión en el tejido, la herida está acompañada de un tiempo de dolor (hiperalgesia), calor, enrojecimiento (eritema) y edema. Estos son clásicos síntomas de la inflamación y son causados por la participación de diversos tipos celulares y mediadores químicos tales como PMNs, eicosanoides, citoquinas, prostaglandinas, leucotrienos y especies de oxígeno reactivas (ROS) entre otros, como ya se mencionó, que interaccionan entre sí en una red compleja (Houghton y col., 2005; Ospina, 2000). Especialmente en heridas abiertas la expresión de esta fase puede conducir a un proceso inflamatorio agudo debido a la falta de regulación de esta etapa y la afectación de factores endógenos y exógenos que conducirá a demorar o impedir el avance del proceso de cicatrización. Evaluar si un tratamiento tradicional mitiga la potente acción inflamatoria del proceso puede explicar en gran parte su uso como cicatrizante.

2.2.8.3 Propiedades Antioxidantes

El papel de los antioxidantes es destruir algunos productos de inflamación pero estos son también beneficiosos en la cicatrización por otros motivos. Los antioxidantes responden sobre el exceso de ROS, a menudo formado por la acumulación de neutrófilos en el área de la herida y sobre el exceso de proteasas ya que protegen a los inhibidores de proteasa del daño de oxidativo (Houghton y col., 2005).

Los fibroblastos y otras células pueden morir por un exceso de ROS, además los lípidos de la piel se harán menos flexibles. Entonces las sustancias antioxidantes reducirán la posibilidad de que ocurran estos acontecimientos adversos. A causa de estos variados factores, los efectos de antioxidante totales parecen ser importantes en el tratamiento acertado de heridas (Houghton y col., 2005).

2.2.9 TIPOS DE CICATRIZACIÓN

La velocidad y el patrón de cicatrización se dividen en tres clases, dependiendo del tipo de tejido involucrado y de las circunstancias del cierre. Se han generalizado los periodos necesarios para tejidos blandos sanos y bien perfundidos, pero pueden variar.

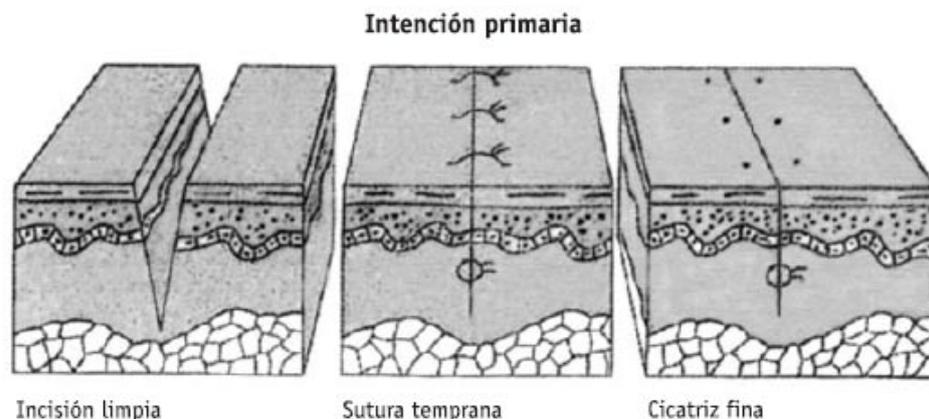


Fig. 9 Cicatrización por primera intención

2.2.9.1 CICATRIZACIÓN POR PRIMERA INTENCIÓN

Todos los cirujanos que cierran una herida quisieran que cicatrizara por unión primaria o primera intención, con mínimo edema y sin infección local o secreción abundante. Una incisión que cicatriza por primera intención, lo hace en un tiempo mínimo, sin separación de los bordes de la herida, y con mínima formación de cicatriz. Esto se lleva a cabo en tres fases distintas:

Fase I - Respuesta Inflamatoria (Día 1 a día 5)

Fase II - Migración/Proliferación (Día 5 a día 14)

Fase III - Maduración/Remodelación (Día 14 hasta la cicatrización completa)

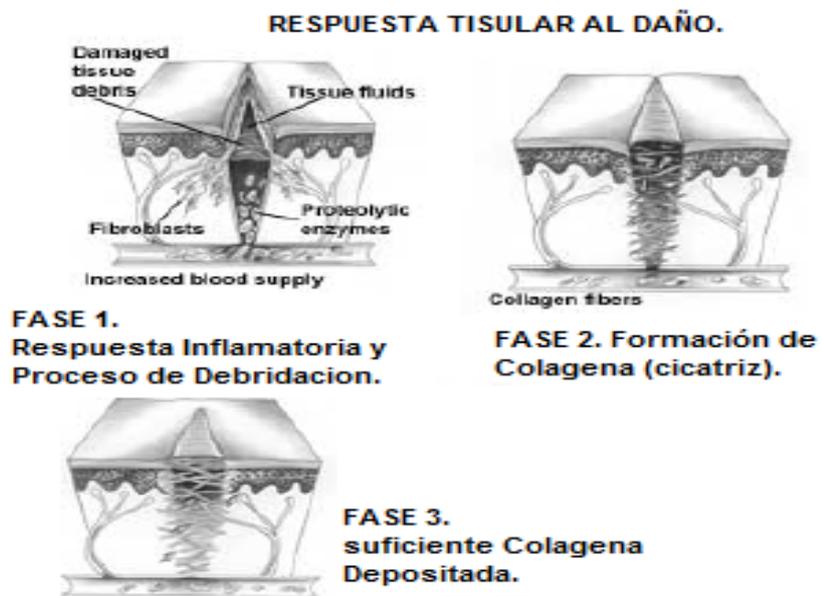


Fig. 10 Respuesta tisular al daño

2.2.9.2 CICATRIZACIÓN POR SEGUNDA INTENCIÓN

Cuando la herida no cicatriza por unión primaria, se lleva a cabo un proceso de cicatrización más complicado y prolongado. La cicatrización por segunda intención es causada por infección, trauma excesivo, pérdida o aproximación imprecisa del tejido.

En este caso, la herida puede dejarse abierta para permitir que cicatrice desde las capas profundas hacia la superficie exterior. Se forma tejido de granulación que contiene miofibroblastos y cierra por contracción. El proceso de cicatrización es lento y habitualmente se forma tejido de granulación y cicatriz. Como resultado, puede ser necesario que el cirujano trate el excesivo tejido de granulación que puede protruir por el margen de la herida y evitar epitelización.

La cicatrización secundaria difiere de la primaria en varios aspectos:

- Se forma un coágulo de mayor tamaño o costra
- La inflamación es más intensa
- Se forman cantidades mucho mayor de tejido de granulación
- La curación de la herida implica la contracción de la herida.

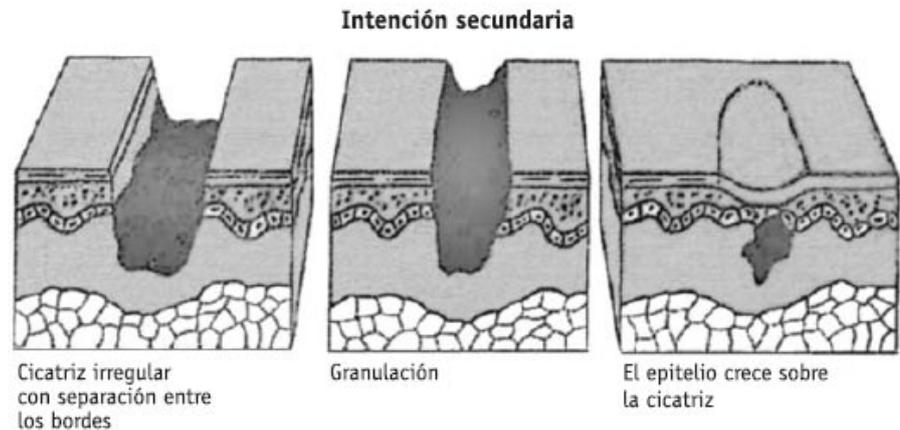


Fig. 11 cicatrización por segunda intención

2.2.9.3 CICATRIZACIÓN POR TERCERA INTENCIÓN

También llamada *cierre primario diferido*, la cicatrización por tercera intención ocurre cuando dos superficies de tejido de granulación son aproximadas. Este es un método seguro de reparación de las heridas contaminadas, así como de las heridas sucias e infectadas y traumatizadas, con pérdida extensa de tejido y riesgo elevado de infección. Este método

se ha utilizado extensamente en el campo militar y ha probado que tiene éxito después de un trauma excesivo relacionado con accidentes automovilísticos, incidentes con armas de fuego, o heridas profundas y penetrantes con cuchillos.

El cirujano habitualmente trata estas lesiones mediante debridación de los tejidos no viables y las deja abiertas. La herida abierta en cicatrización recupera gradualmente la suficiente resistencia a la infección que le permite un cierre no complicado. Generalmente esto se lleva a cabo cuatro a seis días después de la lesión.

Este proceso se caracteriza por el desarrollo de yemas capilares y tejido de granulación. Cuando se lleva a cabo el cierre, los bordes de la piel y el tejido subyacente deben aproximarse y asegurarse con precisión.

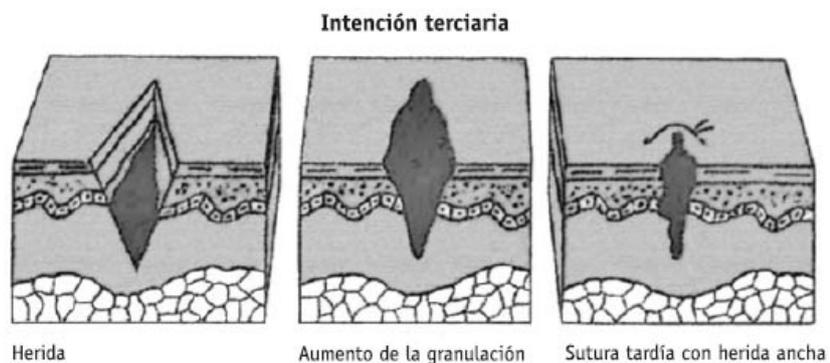


Fig. 12 Cicatrización por tercera intención

2.3 Definiciones Básicas

Epidermis: es la capa externa de la piel, un epitelio escamoso estratificado, compuesto de queratinocitos que proliferan en su base y se diferencian progresivamente, a medida que son empujados hacia el exterior. La epidermis es la barrera más importante del cuerpo al ambiente externo hostil

Dermis La dermis es la capa de la piel situada bajo la epidermis y firmemente conectada a ella. La cara interna de la membrana basal de la epidermis se le une a la dermis.

Hipodermis Es la capa más profunda de la piel. La hipodermis es rica en tejido graso, que al tener una textura blanda actúa como protección de los órganos del cuerpo que hay por debajo. Después de la hipodermis ya hay el tejido subcutáneo, que constituye el límite interno de la piel

Inflamación Es la forma de manifestarse de muchas enfermedades. Se trata de una respuesta inespecífica frente a las agresiones del medio, y está generada por los agentes inflamatorios. La respuesta inflamatoria ocurre solo en tejidos conectivos vascularizados y surge con el fin defensivo de aislar y destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano dañado.

Aceite Esencial es una mezcla de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico de algunas flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris).

Destilación Por Arrastre A Vapor: es un tipo especial de destilación que se basa en el equilibrio de líquidos inmiscibles.

Cicatrización: es un proceso biológico mediante el cual los tejidos vivos reparan sus heridas dejando -para el caso de las heridas cutáneas- una cicatriz que puede ser estética o inestética.

CREMA: En medicina o en farmacia, una crema es un preparado semisólido para el tratamiento tópico. Tiene una base de agua (a diferencia de un ungüento o pomada). Las cremas contienen de un 60 a 80% de agua, para poder formar un líquido espeso y homogéneo.

CAPÍTULO III: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1. RESULTADOS

3.1.1. MARCHA DE SOLUBILIDAD Y FITOQUIMICA

Tabla 01. Marcha de solubilidad del aceite esencial de *Satureja pulchella* "panizara"

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua	---
Metanol	+ + +
Etanol 70%	+ +
Acetona	+ + +
Acetato de Etilo	+ + +
Éter Etílico	+ + +
Cloroformo	+ + +
Benceno	+ + +
Hexano	+ + +

+: Poco soluble, ++: soluble, +++: muy soluble.

Tabla 02. Marcha fitoquímica del aceite esencial *Satureja pulchella* "panizara"

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVOS	PRESENCIA
Glicósidos	Benedict	+ ++
Aminoácido	Ninhidrina	+
Compuestos Fenólicos	Cloruro Férrico	+ + +
Flavonoides	Shinoda	-----
Quinonas	Borntrager	----
Taninos	Gelatina-Sal	----
Resinas	Acetato de Cobre	+ + +
Alcaloides	Dragendorff y Mayer	---
Saponinas	Espuma	---
Lactonas	Hidroxamato Férrico	+ ++

-: ausencia,+: escasa cantidad, ++: moderada cantidad,+++:
abundante cantidad.

3.1.2. ESTUDIO FARMACOLÓGICO

3.1.2.1. Resultados del Test de Cicatrización

Tabla N°1: Estadística Descriptiva para Los pesos obtenidos de cada tratamiento aplicado

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	3	91,3333	,76376	,44096	89,4360	93,2306	90,50	92,00
2,00	3	10,4333	,40415	,23333	9,4294	11,4373	10,00	10,80
3,00	3	42,8667	2,56970	1,48361	36,4832	49,2501	40,50	45,60
4,00	3	53,6000	3,53836	2,04287	44,8102	62,3898	50,40	57,40
5,00	3	78,2000	1,50997	,87178	74,4490	81,9510	76,80	79,80
Total	15	55,2867	29,30653	7,56691	39,0573	71,5161	10,00	92,00

Leyenda:

1. Control negativo (piel intacta)
2. Control Positivo (sin tratamiento)
3. Crema al 3%
4. Crema al 5%
5. Crema al 10%

N: Número de Muestras (*Rattus rattus var. albinus*)

En este cuadro podemos observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Si observamos la media o promedio por cada tratamiento aplicado todos se encuentra dentro de los límites establecidos.

Tabla N°2: Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,440	4	10	,115

Donde:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $p > 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, aceptando la hipótesis alternativa.

Tabla N°3: ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11979,917	4	2994,979	676,068	,000
Intra-grupos	44,300	10	4,430		
Total	12024,217	14			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicó la prueba de TUKEY.

Tabla N°4: Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

HSD de Tukey

(I) Categoria	(J) Categoria	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	80,90000*	1,71853	,000	75,2442	86,5558
	3,00	48,46667*	1,71853	,000	42,8109	54,1225
	4,00	37,73333*	1,71853	,000	32,0775	43,3891
	5,00	13,13333*	1,71853	,000	7,4775	18,7891
2,00	1,00	-80,90000*	1,71853	,000	-86,5558	-75,2442
	3,00	-32,43333*	1,71853	,000	-38,0891	-26,7775
	4,00	-43,16667*	1,71853	,000	-48,8225	-37,5109
	5,00	-67,76667*	1,71853	,000	-73,4225	-62,1109
3,00	1,00	-48,46667*	1,71853	,000	-54,1225	-42,8109
	2,00	32,43333*	1,71853	,000	26,7775	38,0891
	4,00	-10,73333*	1,71853	,001	-16,3891	-5,0775
	5,00	-35,33333*	1,71853	,000	-40,9891	-29,6775
4,00	1,00	-37,73333*	1,71853	,000	-43,3891	-32,0775
	2,00	43,16667*	1,71853	,000	37,5109	48,8225
	3,00	10,73333*	1,71853	,001	5,0775	16,3891
	5,00	-24,60000*	1,71853	,000	-30,2558	-18,9442
5,00	1,00	-13,13333*	1,71853	,000	-18,7891	-7,4775
	2,00	67,76667*	1,71853	,000	62,1109	73,4225
	3,00	35,33333*	1,71853	,000	29,6775	40,9891
	4,00	24,60000*	1,71853	,000	18,9442	30,2558

* La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

DONDE:

1. Control negativo (piel intacta)
2. Control Positivo (sin tratamiento)
3. Crema al 3%
4. Crema al 5%
5. Crema al 10%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 1 – 2 – 3 – 4 y 5. Por ello se debe aplicar la prueba de Subconjuntos de TUKEY para identificar las diferencias antes mencionadas.

**Tabla N°5: Prueba de Subconjuntos de Tukey
HSD de Tukey**

Categoría	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
2,00	3	10,4333				
3,00	3		42,8667			
4,00	3			53,6000		
5,00	3				78,2000	
1,00	3					91,3333
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

En el cuadro adjunto podemos observar que todas las medias de los tratamientos aplicados son distintos, por lo tanto la crema al 10% presenta el mejor efecto cicatrizante.

DÍA 3

Tabla N°1: Estadística Descriptiva para las longitudes obtenidas de cada tratamiento aplicado

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	3	1,0000	,00000	,00000	1,0000	1,0000	1,00	1,00
2,00	3	,8667	,05774	,03333	,7232	1,0101	,80	,90
3,00	3	,8333	,05774	,03333	,6899	,9768	,80	,90
4,00	3	,7667	,05774	,03333	,6232	,9101	,70	,80
Total	12	,8667	,09847	,02843	,8041	,9292	,70	1,00

Leyenda:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

N: Número de Muestras (*Rattus rattus var. albinus*)

En este cuadro podemos observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Si observamos la media o promedio por cada tratamiento aplicado todos se encuentra dentro de los límites establecidos.

Tabla N°2: Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
5,333	3	8	,026

Donde:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $p < 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneas, aceptando la hipótesis nula. Es importante el resultado ya que esto nos permite elegir la prueba estadística inferencial correspondiente que en este caso fue la prueba ANNOVA One Way o de un factor.

Tabla N°3: ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,087	3	,029	11,556	,003
Intra-grupos	,020	8	,003		
Total	,107	11			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicó la prueba de TUKEY ya que es la más usada por los estadistas.

Tabla N°4: Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

HSD de Tukey

(I) Categoria	(J) Categoria	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	,13333*	,04082	,046	,0026	,2641
	3,00	,16667*	,04082	,015	,0359	,2974
	4,00	,23333*	,04082	,002	,1026	,3641
2,00	1,00	-,13333*	,04082	,046	-,2641	-,0026
	3,00	,03333	,04082	,845	-,0974	,1641
	4,00	,10000	,04082	,144	-,0307	,2307
3,00	1,00	-,16667*	,04082	,015	-,2974	-,0359
	2,00	-,03333	,04082	,845	-,1641	,0974
	4,00	,06667	,04082	,414	-,0641	,1974
4,00	1,00	-,23333*	,04082	,002	-,3641	-,1026
	2,00	-,10000	,04082	,144	-,2307	,0307
	3,00	-,06667	,04082	,414	-,1974	,0641

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Donde:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 1 y 2 – 3 – 4. Por ello se debe aplicar la prueba de Subconjuntos de TUKEY para identificar las diferencias antes mencionadas.

Tabla N°5: Prueba de subconjunto de Tukey

HSD de Tukey

Categoria	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
4,00	3	,7667	
3,00	3	,8333	
2,00	3	,8667	
1,00	3		1,0000
Sig.		,144	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

En el cuadro adjunto podemos observar que las medias de los tratamientos 2, 3 y 4 son iguales. Se concluye que en el día tercero las cremas al 3%, 5% y 10% presentan el mismo efecto cicatrizante.

Día 4

Tabla N°1: Estadística Descriptiva para las longitudes obtenidas de cada tratamiento aplicado

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	3	,8333	,05774	,03333	,6899	,9768	,80	,90
2,00	3	,7000	,10000	,05774	,4516	,9484	,60	,80
3,00	3	,6333	,05774	,03333	,4899	,7768	,60	,70
4,00	3	,4000	,10000	,05774	,1516	,6484	,30	,50
Total	12	,6417	,17816	,05143	,5285	,7549	,30	,90

Leyenda:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

N: Número de Muestras (*Rattus rattus var. albinus*)

En este cuadro podemos observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Si observamos la media o promedio por cada tratamiento aplicado todos se encuentra dentro de los límites establecidos.

Tabla N°2: Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,267	3	8	,848

Dónde:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $p > 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, aceptando la hipótesis alternativa.

Tabla N°3: ANOVA de un factor

Longitud

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,296	3	,099	14,792	,001
Intra-grupos	,053	8	,007		
Total	,349	11			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicó la prueba de TUKEY ya que es la más usada por los estadistas.

Tabla N°4: Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

HSD de Tukey

(I) Categoria	(J) Categoria	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	,13333	,06667	,264	-,0802	,3468
	3,00	,20000	,06667	,067	-,0135	,4135
	4,00	,43333*	,06667	,001	,2198	,6468
2,00	1,00	-,13333	,06667	,264	-,3468	,0802
	3,00	,06667	,06667	,754	-,1468	,2802
	4,00	,30000*	,06667	,009	,0865	,5135
3,00	1,00	-,20000	,06667	,067	-,4135	,0135
	2,00	-,06667	,06667	,754	-,2802	,1468
	4,00	,23333*	,06667	,033	,0198	,4468
4,00	1,00	-,43333*	,06667	,001	-,6468	-,2198
	2,00	-,30000*	,06667	,009	-,5135	-,0865
	3,00	-,23333*	,06667	,033	-,4468	-,0198

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Donde:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 4 y 1 – 2 – 3. Por ello se debe aplicar la prueba de Subconjuntos de TUKEY para identificar las diferencias antes mencionadas.

Tabla N°5: Prueba de Subconjunto de Tukey

HSD de Tukey

Categoría	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
4,00	3	,4000	
3,00	3		,6333
2,00	3		,7000
1,00	3		,8333
Sig.		1,000	,067

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

En el cuadro adjunto podemos observar que las medias de los tratamientos 1, 2 y 3 son iguales. Se concluye que en el día cuarto la crema 10% presenta el mejor efecto cicatrizante.

DÍA 5

Tabla N°1: Estadística Descriptiva para las longitudes obtenidas de cada tratamiento aplicado

Longitud

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	3	,8333	,05774	,03333	,6899	,9768	,80	,90
2,00	3	,5333	,11547	,06667	,2465	,8202	,40	,60
3,00	3	,6333	,05774	,03333	,4899	,7768	,60	,70
4,00	3	,1333	,05774	,03333	-,0101	,2768	,10	,20
Total	12	,5333	,27414	,07914	,3592	,7075	,10	,90

Leyenda:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

N: Número de Muestras (*Rattus rattus var. albinus*)

En este cuadro podemos observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Si observamos la media o promedio por cada tratamiento aplicado todos se encuentra dentro de los límites establecidos.

Tabla N°2: Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,286	3	8	,156

Dónde:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $p > 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, aceptando la hipótesis alternativa.

Tabla N°3: ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,780	3	,260	44,571	,000
Intra-grupos	,047	8	,006		
Total	,827	11			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicó la prueba de TUKEY ya que es la más usada por los estadistas.

Tabla N°4: Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

HSD de Tukey

(I) Categoria	(J) Categoria	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	,30000*	,06236	,006	,1003	,4997
	3,00	,20000*	,06236	,050	,0003	,3997
	4,00	,70000*	,06236	,000	,5003	,8997
2,00	1,00	-,30000*	,06236	,006	-,4997	-,1003
	3,00	-,10000	,06236	,428	-,2997	,0997
	4,00	,40000*	,06236	,001	,2003	,5997
3,00	1,00	-,20000*	,06236	,050	-,3997	-,0003
	2,00	,10000	,06236	,428	-,0997	,2997
	4,00	,50000*	,06236	,000	,3003	,6997
4,00	1,00	-,70000*	,06236	,000	-,8997	-,5003
	2,00	-,40000*	,06236	,001	-,5997	-,2003
	3,00	-,50000*	,06236	,000	-,6997	-,3003

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Donde:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 1, 2 - 3 y 4. Por ello se debe aplicar la prueba de Subconjuntos de TUKEY para identificar las diferencias antes mencionadas.

Tabla N°5: Prueba de subconjunto de Tukey
HSD de Tukey

Categoría	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
4,00	3	,1333		
2,00	3		,5333	
3,00	3		,6333	
1,00	3			,8333
Sig.		1,000	,428	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

En el cuadro adjunto podemos observar que las medias de los tratamientos 2 y 3 son iguales. Se concluye que en el día quinto las cremas al 3% y 5% presentan el mismo efecto cicatrizante. La crema al 10% presenta la máxima acción.

DÍA 6

Tabla N°1: Estadística Descriptiva para las longitudes obtenidas de cada tratamiento aplicado

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	3	,8333	,05774	,03333	,6899	,9768	,80	,90
2,00	3	,4000	,17321	,10000	-,0303	,8303	,20	,50
3,00	3	,3667	,15275	,08819	-,0128	,7461	,20	,50
4,00	3	,0333	,05774	,03333	-,1101	,1768	,00	,10
Total	12	,4083	,31467	,09084	,2084	,6083	,00	,90

Leyenda:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

N: Número de Muestras (*Rattus rattus var. albinus*)

En este cuadro podemos observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Si observamos la media o promedio por cada tratamiento aplicado todos se encuentra dentro de los límites establecidos.

Tabla N°2: Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,833	3	8	,106

Dónde:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $p > 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, aceptando la hipótesis alternativa.

Tabla N°3: ANOVA de un factor

Longitud

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,969	3	,323	21,537	,000
Intra-grupos	,120	8	,015		
Total	1,089	11			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicó la prueba de TUKEY ya que es la más usada por los estadistas.

Tabla N°4: Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

HSD de Tukey

(I) Categoria	(J) Categoria	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	,43333*	,10000	,011	,1131	,7536
	3,00	,46667*	,10000	,007	,1464	,7869
	4,00	,80000*	,10000	,000	,4798	1,1202
2,00	1,00	-,43333*	,10000	,011	-,7536	-,1131
	3,00	,03333	,10000	,986	-,2869	,3536
	4,00	,36667*	,10000	,026	,0464	,6869
3,00	1,00	-,46667*	,10000	,007	-,7869	-,1464
	2,00	-,03333	,10000	,986	-,3536	,2869
	4,00	,33333*	,10000	,042	,0131	,6536
4,00	1,00	-,80000*	,10000	,000	-1,1202	-,4798
	2,00	-,36667*	,10000	,026	-,6869	-,0464
	3,00	-,33333*	,10000	,042	-,6536	-,0131

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Donde:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 1, 2-3 y 4. Por ello se debe aplicar la prueba de Subconjuntos de TUKEY para identificar las diferencias antes mencionadas.

Tabla N°5: Prueba de Subconjunto de Tukey

HSD de Tukey

Categoría	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
4,00	3	,0333		
3,00	3		,3667	
2,00	3		,4000	
1,00	3			,8333
Sig.		1,000	,986	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

En el cuadro adjunto podemos observar que las medias de los tratamientos 2 y 3 son iguales. Se concluye que en el día sexto las cremas al 3% y 5% presentan el mismo efecto cicatrizante y además la crema al 10% presenta la máxima acción.

Día 7

Tabla N°1: Estadística Descriptiva para las longitudes obtenidas de cada tratamiento aplicado

Longitud

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	3	,6333	,05774	,03333	,4899	,7768	,60	,70
2,00	3	,1667	,15275	,08819	-,2128	,5461	,00	,30
3,00	3	,1333	,15275	,08819	-,2461	,5128	,00	,30
4,00	3	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Total	12	,2333	,26742	,07720	,0634	,4032	,00	,70

Leyenda:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

N: Número de Muestras (*Rattus rattus var. albinus*)

En este cuadro podemos observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Si observamos la media o promedio por cada tratamiento aplicado todos se encuentra dentro de los límites establecidos.

Tabla N°2: Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,556	3	8	,067

Dónde:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $p > 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, aceptando la hipótesis nula.

Tabla N°3: ANOVA de un factor

Longitud

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,687	3	,229	18,311	,001
Intra-grupos	,100	8	,012		
Total	,787	11			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicó la prueba de TUKEY ya que es la más usada por los estadistas.

Tabla N°4: Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

HSD de Tukey

(I) Categoria	(J) Categoria	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	,46667*	,09129	,004	,1743	,7590
	3,00	,50000*	,09129	,003	,2077	,7923
	4,00	,63333*	,09129	,001	,3410	,9257
2,00	1,00	-,46667*	,09129	,004	-,7590	-,1743
	3,00	,03333	,09129	,982	-,2590	,3257
	4,00	,16667	,09129	,329	-,1257	,4590
3,00	1,00	-,50000*	,09129	,003	-,7923	-,2077
	2,00	-,03333	,09129	,982	-,3257	,2590
	4,00	,13333	,09129	,501	-,1590	,4257
4,00	1,00	-,63333*	,09129	,001	-,9257	-,3410
	2,00	-,16667	,09129	,329	-,4590	,1257
	3,00	-,13333	,09129	,501	-,4257	,1590

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Donde:

1. Control positivo (sin tratamiento)
2. Crema al 3%
3. Crema al 5%
4. Crema al 10%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 1 y 2 – 3 – 4. Por ello se debe aplicar la prueba de Subconjuntos de TUKEY para identificar las diferencias antes mencionadas.

Tabla N°5: Prueba de Subconjuntos de Tukey

HSD de Tukey

Categoría	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
4,00	3	,0000	
3,00	3	,1333	
2,00	3	,1667	
1,00	3		,6333
Sig.		,329	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

En el cuadro adjunto podemos observar que las medias de los tratamientos 2, 3 y 4 son iguales. Se concluye que en el día séptimo las cremas al 3%, 5% y 10% presentan el mismo efecto cicatrizante.

3.2. DISCUSIÓN

La presente investigación de tipo experimental “in vivo”, tuvo como propósito evaluar el efecto cicatrizante de la crema O/W elaborado a base del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara”, utilizando tres concentraciones del aceite esencial (3%, 5% y 10%). La medición del peso en el dinamómetro corrobora el efecto cicatrizante de cada crema O/W, observándose un mayor efecto en la crema O/W al 10%, seguido por la crema O/W al 5% y finalmente la crema O/W al 3%, ya que a mayor peso entonces mayor fuerza de tensión se requiere para reabrir la herida, por ende la actividad cicatrizante es alta. Esta técnica también fue empleada por Calderón y Col. (1995), pero en *Crotón lecheri* “Sangre de Grado” determinando que la aplicación tópica favorecía los niveles de resistencia a la tensión.

La marcha de solubilidad nos permite determinar que los componentes de aceites esenciales es de naturaleza apolar, dado que los aceites esenciales son moléculas terpénicas y fenilpropanoides, por ello es más soluble en solventes orgánicos.

Se aplicó estadística descriptiva para todos los tratamientos aplicados, por ende en los días 3, 4, 5, 6 y 7 todos los promedios se encuentran dentro de los límites establecidos, es decir se les pudo pruebas estadísticas inferenciales.

En el día 3, al aplicar la prueba de ANNOVA one way ($P < 0.05$) se afirmó la hipótesis alternativa, es decir, existieron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados concluyendo mediante prueba de TUKEY que las cremas O/W al 3%, 5% y 10% presentan el mismo efecto cicatrizante.

En el día 4, al aplicar la prueba de ANNOVA one way ($P < 0.05$) se afirmó la hipótesis alternativa, es decir, existieron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados concluyendo mediante prueba de TUKEY que la cremas O/W al 10% presentan el mejor efecto cicatrizante.

En el día 5, al aplicar la prueba de ANNOVA one way ($P < 0.05$) se afirmó la hipótesis alternativa, es decir, existieron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados concluyendo mediante prueba de TUKEY que la crema O/W al 10% presentan el mejor efecto cicatrizante.

En el día 6, al aplicar la prueba de ANNOVA one way ($P < 0.05$) se afirmó la hipótesis alternativa, es decir, existieron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados concluyendo mediante prueba de TUKEY que las cremas al 3% y 5% presentan el mismo efecto cicatrizante y además la crema al 10% presenta la máxima acción.

En el día 7, al aplicar la prueba de ANNOVA one way ($P < 0.05$) se afirmó la hipótesis alternativa, es decir, existieron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados concluyendo mediante prueba de TUKEY que las cremas al 3%, 5% y 10% presentan el mismo efecto cicatrizante.

De los ensayos para evaluar efecto cicatrizante se observó que todas las cremas formuladas a base del aceite esencial de ***Clonipodium pulchellum*** “Panizara”, presentaron actividad terapéutica como cicatrizantes externos, pero la crema O/W al 10% presentó el mejor efecto, esto se refleja en una mayor velocidad de reparación en los primeros días de curación de la herida, posteriormente las heridas continúan con sus etapas normales de acumulación y remodelación del colágeno.

La actividad cicatrizante podría deberse a la presencia de terpenos, como monoterpenos y sesquiterpenos y los fenil propanos reaccionarían con las células de la piel lesionada interviniendo así en el proceso de la cicatrización, ya que son excelentes antimicrobianos e inductores de la cicatrización.

CONCLUSIONES

1. La crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” presenta efecto cicatrizante y fue corroborada con pruebas estadísticas descriptivas e inferenciales como ANNOVA one way y prueba post hoc de TUKEY a un nivel de confianza del 95% y un error relativo del 5%.
2. El tiempo de cicatrización de una herida tratada con la crema dérmica óleo/acuosa (O/W) elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” fue de 7 días.
3. Todas las cremas dérmicas óleo/acuosa (O/W) elaboradas a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” presentaron efecto cicatrizante.
4. La crema dérmica óleo/acuosa (O/W) al 10% elaborada a base del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Clonipodium pulchellum* “Panizara” presentó el mejor efecto cicatrizante corroborada con pruebas estadísticas descriptivas e inferenciales como ANNOVA one way y prueba post hoc de TUKEY a un nivel de confianza del 95% y un error relativo del 5%.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar ensayos de estabilidad de las cremas a las diferentes concentraciones trabajadas.
2. Se recomienda realizar ensayos de estabilidad a un tiempo de 5 meses para verificar la características organolépticas y fisicoquímicas de la crema óleo/acuosa (O/W) elaborado a partir del aceite esencial de ***Clonipodium pulchellum*** “Panizara”.
3. Se recomienda a nuestra institución la implementación de laboratorios especializados como un laboratorio de farmacognosia, toxicología y físico – química, además de un bioterio adecuado para poder seguir investigando y dar aportes a la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Bandoni A.** Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs. As.; 2000.
2. **Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J.** Herbal medicine. Expanded Commission E Monograph. American Botanical Council. Integrative Medicine Communications, 2000.
3. **Bruneton J.** Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. Ed. Acribia. Barcelona, 2001.
4. **Carhuapoma M, Soria R, López S, Acosta A, García J, Arce J.** Caracterización Morfoanatómica y Screening Fitoquímica de la Hoja y Tallo de la *Satureja pulchella* “panizara”. Lima (PE): Laboratorio de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM. Lima; 2005
5. **Patiño, J.F.** lecciones de cirugía. Editorial médica panamericana. 2000
6. **Guyton AC.** Tratado de Fisiología Médica. 11ª ed. Madrid: Elsevier España. 2006.
7. **Netter FH.** Atlas de Anatomía Humana. 3ª ed. Barcelona: Ed. Masson; 2003.
8. **Wayne D.** Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 4ta. Edición. Edit. Limusa Wiley. México. D.F.; 2002.
9. **CYTED.** Manual de técnicas de investigación. Sub programa X. Química fina farmacéutica. Panamá; 1995.
10. **Vargas R.** Estudio Botánico y Químico de la *Satureja pulchella* (Panizara) [Tesis]. Lima (PE): Escuela de Farmacia y Química Aplicada de la Facultad de Ciencias Médicas UNMSM; 1942.
11. **Carhuapoma Y.** Taxonomía de las Plantas Medicinales Aromáticas Nativas de la Provincia de Huamanga y sus Perspectivas Económicas. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH. Ayacucho; 2003.
12. **Carlos C, Bonilla P y Col.** Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *minthostachys mollis* (muña), (2008)

13. **Bonilla R.P.E** Actividad cicatrizante del aceite esencial de *Schinus molle* L. “molle” a diferentes concentraciones, en comparación con un producto comercial. (2009)
14. **Adrianzén P y Piminchumo J**, Condiciones óptimas de extracción de aceite esencial y contenido de timol de panizara (satureja panicera) del distrito de cabana – ancash, (2010)
15. **Kuklinski C**. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Reimpresión. Omega, 1999.
16. **Real Farmacopea Española**. Tercera edición. 2005.
17. **Guyton y Hall**. Tratado de fisiología médica, Duodécima Edición, Elsevier edición en español.
18. **Guillermo N**. Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R. et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. Tesis para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima; 2002.
19. **Holetz FB, Ueda-Nakamura T, Filho BP, Cortez DA, Morgado-Díaz JA, Nakamura CV**. Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the Trypanosomatid *Herpetomonas samuelpessoai*. Acta Protozool 2003; 42: 269-276.
20. **Cocco M, Bertones M**. Uso de aceites de ajo en la cicatrización de los tejidos blandos en fractura expuesta contaminada en un canino; (2005)
21. **Santoro GF, Cardoso MG, Guimaraes LG, Salgado AP, Menna-Barreto RF, Soares MJ**. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultraestructure. *Parasitology research* 2007; 100(4):783-790.
22. **Sakovic MD, Vukojevic J, Marín PD, Brkic DD, Vajs V, Griensven LJJL**. Chemical composition of essential oil of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules* 2009, 14, 238-249.

23. **Alonso N.** Actividad antioxidante de *Satureja macrostema*, debido a su contenido fenólico. 2009.
24. **Lagarto PA, Tillan CJ, Vega MR. Cabrera GY.** Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales. *Rev. Cubana Plant Med* 1999; 1(4): 26-8.
25. **Palau y Verdera, A.** Sistema de los vegetales del caballero Carlos Linneo, Editorial Real, Madrid, 1788.
26. **Mostacero LJ, Mejía CF, Gamarra TO.** Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Edit. CONCYTEC. Trujillo; 2002.
27. **Goodman y Gilman's.** Las bases farmacológicas de la terapéutica, 12ava Edición, McGraw Hill Professionall, 2011.
28. **Ortuño M.** Manual Práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. 1era Ed. Ayana España, 2006.
29. **Urrunaga R, Urrunaga E, Acurio L.** Investigacion de la *Satureja boliviana* Planta Medicinal Andina. SITUA 1995
30. **Page C., Curtis M., Sutter M., Walker M., Hoffman B.** Farmacología integrada. Ed. Harcourt Brace. España. 1998.
31. **Kumar V., Abbas A., Abul K., Fausto N. y Robbins V.** Pathologic basis of disease. VII. edition. Pennsylvania . Elsevier. 2005.
32. **Li J., Chen J. y Kirsner R.** Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*. 2007.
33. **Geneser F.** Histología. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 2006.
34. **Cotran R., Vinay K. y Collins T.** Patología estructural y funcional. Ed. Panamericano. McGrawHill. 1999.
35. **Aïache J., Devissaguet J. y Guyot A.** Biofarmacia. El Manual Moderno. México. 1983.
36. **Abbas A., Lichtman A. y Pober J.** Inmunología celular y molecular. McGrawHill. México.1998.

REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

- **OECD.** Guideline for testing of chemicals. Organization for economic co-operation and development. Guide No. 425, 2001. Up and down procedure. URL disponible en: <http://www.oecd.org> [fecha de acceso 10 diciembre 2006].

ANEXOS

Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables e Indicadores	Marco Teórico	Metodología
<p>Evaluación in vivo del efecto cicatrizante de una crema dérmica oleo acuosa elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i> "panizara" en la ciudad de Huacho de Febrero a Julio del 2015.</p>	<p>¿Tendrá efecto cicatrizante la crema dérmica oleo acuosa elaborada a partir del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i> "panizara" en la ciudad de Huacho de Febrero a Julio del 2015?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar in vivo el efecto cicatrizante de una crema dérmica elaborada con el aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i>.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>a) Determinar el tiempo de cicatrización de una herida tratada con la crema dérmica oleo acuosa elaborada con aceite esencial de hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i>.</p> <p>b) Determinar la concentración que presenta mayor efecto cicatrizante de la crema dérmica oleo acuosa elaborada con el aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i>.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>La crema dérmica oleo acuosa elaborada con el aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i> posee e efecto cicatrizante en heridas realizadas a ratones albinos cepa Balb/c.</p> <p>Hipótesis Secundarias</p> <p>a) El tiempo de cicatrización de La crema formulada con el aceite esencial de hojas de <i>Clonipodium pulchellum</i> es menor a 7 días.</p> <p>b) La crema dérmica oleo acuosa (O/W) a una concentración al 10% elaborada con el aceite esencial obtenida de hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i> presenta mayor efecto cicatrizante.</p>	<p>Variables Independientes</p> <p>Concentración porcentual de la crema dérmica elaborada con el aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i>.</p> <p>Indicadores</p> <p>Elaboración de la crema dérmica oleo acuosa elaborada a concentraciones de 3%, 5% y 10%. Screening fitoquímico del aceite esencial</p> <p>Variables dependientes</p> <p>Efecto cicatrizante de la crema dérmica oleo acuosa elaborada con el aceite esencial obtenida de las hojas frescas de <i>Clonipodium pulchellum</i>.</p> <p>Indicadores</p> <p>Test de cicatrización</p> <p>Heridas con grado de cicatrización.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Plantas aromáticas y aceites esenciales - Crema dérmica - Cicatrización - <i>Clonipodium pulchellum</i> (panizara) - Piel - Heridas - Destilación por arrastre a vapor 	<p>Población:</p> <p>Ratones Albinos cepa BALB/c</p> <p>Muestra:</p> <p>15 ratones hembra de peso de 20 – 25 g.</p> <p>Método:</p> <p>Ratones albino con herida en el lomo</p> <p>Determinar fuerza de tensión.</p>



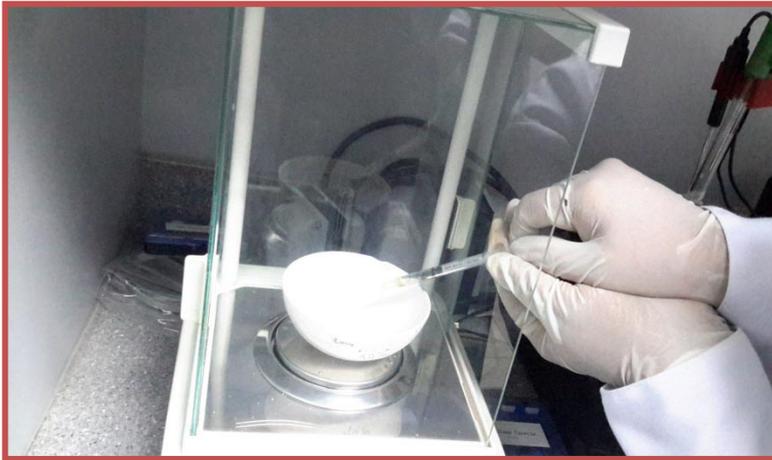
**Hojas frescas de
Saturejapulchella "Panizara"**



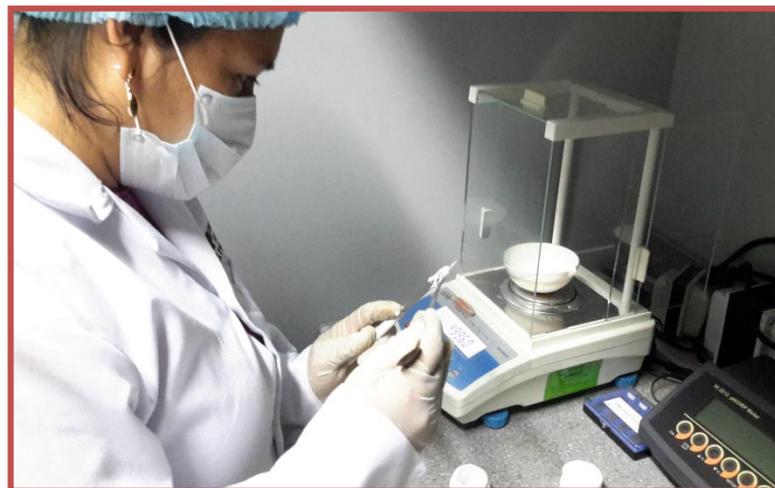
**Obtención del aceite
esencial de
Saturejapulchella
"Panizara"**



**Pesado en gramos del
aceite esencial para la
formulación de la
crema**



Pesado del aceite esencial



Homogenización de la crema con el aceite esencial en diferentes concentraciones



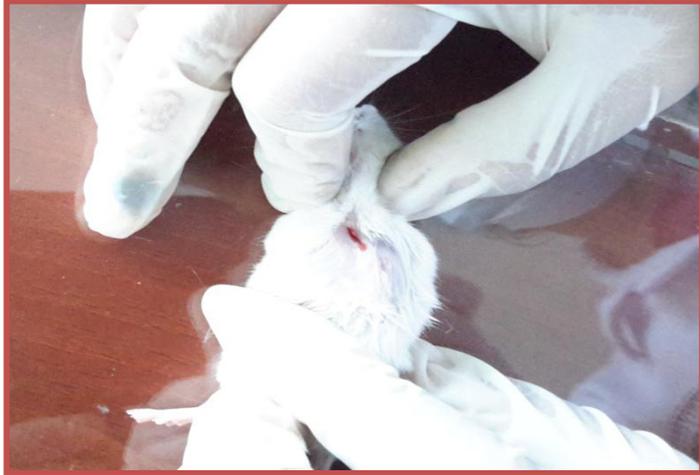


**Envasado de la crema
dérmica con aceite
esencial de
Saturejapulchellaen
diferentes
concentraciones**

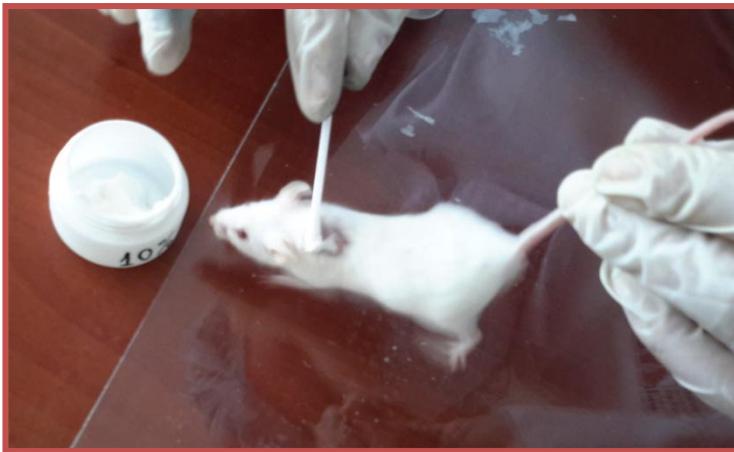


**Adecuación y
separación de los
ratones Cepa
BALB/c**





**Muestra de corte
realizado en el lomo de
los ratones en
experimentación**



**Aplicación de la
crema
(Se realizó la
aplicación en
concentraciones de
3%, 5%, 10% y el
placebo)**