

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN DE HUÁNUCO

ESCUELA DE POST GRADO



TESIS

**EFFECTO DEL ACEITE DE COPAIBA (*Copaifera officinalis*) EN
LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS CUTÁNEAS PROVOCADAS
EN RATONES DE LABORATORIO**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAGISTER EN CIENCIAS
VETERINARIAS**

TESISTA:

ESTHER JANNET GARCÍA ALEGRE

ASESOR:

MG WILDER JAVIER MARTEL TOLENTINO

HUÁNUCO-PERÚ

2015

II

DEDICATORIA:

A **Dios**, quien me dio la fe, la fortaleza, la salud y la esperanza para terminar mi tesis.

A mi **esposo**, Edison Evangelista, quien me brindó su amor, su cariño, su estímulo y su apoyo constante. Su cariño, comprensión y paciente espera para que pudiera terminar Mi tesis son evidencia de su gran amor. ¡Gracias!

A mis adoradas hijas **Adriana y Luciana** quienes me prestaron el tiempo que les pertenecía para terminar la Tesis ¡Gracias, mis hermosas princesas!

A mis **padres**, Walter e Isabel, quienes me enseñaron desde pequeña a luchar para alcanzar mis metas. Mi triunfo es el de ustedes, Los quiero.

A mis **hermanos** Percy, Edwin, Kelly, Jorge y Marco por su apoyo y compañía

A mis **segundos padres**, Teodosio y Francisca quienes siempre me ayudaron y me motivaron a seguir adelante.

El autor

III

AGRADECIMIENTO

- En primer lugar deseo expresar mi agradecimiento a mi Asesor de Tesis, Mg Wilder Javier Martel Tolentino, por la dedicación y apoyo brindado a este trabajo, por el respeto a mis sugerencias e ideas y por la dirección y el rigor que facilitaron la culminación de este trabajo de investigación.
- Pero un trabajo de investigación es también fruto del reconocimiento y del apoyo vital que nos ofrecen las personas que nos estiman, sin el cual no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales.
- Gracias a mi familia, a mis padres, a mis hermanos, porque con ellos compartí una infancia feliz, que guardo en el recuerdo y es un aliento para seguir escribiendo sobre la infancia.
- Gracias a mis segundos padres, Teodosio y Francisca quienes siempre me ayudaron y me motivaron a seguir adelante.
- Gracias a mis amigos, que siempre me han prestado un gran apoyo moral y humano, necesarios en los momentos difíciles de este trabajo y esta profesión.
- Pero, sobre todo, gracias a mi esposo Edison y a mis hijas Adriana y Luciana, por su amor, paciencia, comprensión y solidaridad con este proyecto, por el tiempo que me han concedido, un tiempo robado a la historia familiar. Sin su apoyo este trabajo nunca se hubiera hecho realidad y, por eso, este trabajo es también el suyo

A todos, muchas gracias.

IV

RESUMEN

EFFECTO DEL ACEITE DE COPAIBA (*Copaifera officinalis*) EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS CUTÁNEAS PROVOCADAS EN RATONES DE LABORATORIO

Objetivo. Determinar la efectividad del *Copaifera officinalis* en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio.

Métodos. Se diseñó un estudio experimental, con 60 ratones de laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán de Huánuco, durante el período de noviembre 2014 a marzo del 2015. Se dividió a los animales en 3 grupos de 20 ratones cada uno, dos controles y un experimental. Los datos se obtuvieron mediante una guía de observación. Se utilizaron las Pruebas de t Student, ANOVA y Tukey.

Resultados. La media del tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas de los ratones de laboratorio, del grupo experimental fue de 13,3 días; del grupo control 1 de 16,2 días y del grupo control 2 de 15,8 días con tratamiento de cada 12 horas. Asimismo, se encontró diferencias significativas entre grupo experimental y el grupo control 1 ($P \leq 0,000$) y grupo control 2 ($P \leq 0,000$) con tratamiento de cada 12 horas en el tiempo de cicatrización de las heridas.

Conclusiones. Los resultados sugieren que el aceite de copaiba extraído en el laboratorio es eficiente y seguro debido a que se redujo el tiempo de cicatrización de la herida sobre todo con tratamiento de cada 12 horas.

Palabras claves: *aceite de copaiba, herida, cicatrización, ratones de laboratorio.*

V

SUMMARY

EFFECT OF THE OIL OF COPAIBA (Copaifera officinalis) IN THE HEALING OF WOUNDS CUTANEOUS INCITED ON LABORATORY MICES

Objective. To determine the effectiveness of Copaifera officinalis in the healing of cutaneous injuries caused in laboratory mice.

Methods. They design an experimental study with 60 mice in the Faculty of Veterinary Medicine, National University of Huanuco Hermilio Valdizan during the period of november 2014 and march 2015. The animals were divided into 3 groups of 20 rats each, two controls and one experimental. Data were obtained through observation guide. We used the Student t tests, ANOVA and Tukey.

Results. The average healing time of the experimental group was 13.3 days, a control group 1 of 16.2 days and the control group 2 of 15.8 days with treatment in 12 hours. Also found significant differences between experimental and control group 1 ($P \leq 0.000$) and control group 2 ($P \leq 0.000$) with treatment every 12 hours at the time of healing of wounds.

Conclusions. The results suggest that laboratory extracted copaiba is efficient and safe because it reduced the time of wound healing especially with treatment every 12 hours.

Keywords: *copaiba oil, wound, healing, laboratory mices.*

VI

INTRODUCCIÓN

La cicatrización de heridas cutáneas es un proceso biológico de gran importancia para los seres vivos en las lesiones accidentales o quirúrgicas. En la fase inicial hay un proceso de inflamación debido a la liberación de una sustancia hormonal, alteración de la vascularización, del flujo de sangre e inicio del proceso de marginación y migración leucocitaria. Los eritrocitos migran con la corriente plasmática fuera del vaso sanguíneo, formando un trasudado o exudado ⁽¹⁾.

En cuanto a la fitoterapia, el Perú, específicamente la zona amazónica, posee una vasta variedad de flora y una herencia genética de gran potencial para poder desarrollar nuevas alternativas medicinales. El cultivo, recolección y administración de plantas medicinales como opción de tratamiento y prácticas curativas están relacionadas principalmente con poblaciones de escasos recursos, sin embargo, actualmente, esta práctica se ha extendido a todas las clases sociales de varias regiones del mundo ⁽²⁾.

La **Copaifera officinalis**, es uno de los géneros de plantas medicinales más importantes en la región amazónica y en Brasil, ya que ésta exuda un aceite resinoso que posee múltiples propiedades farmacológicas demostradas ⁽³⁾.

Los efectos atribuidos al aceite de copaiba en medicina folclórica son antiinflamatorio, antitumoral, antiséptico urinario, enfermedades de la piel, úlceras; también, como cicatrizante de heridas. Se ha estudiado las propiedades del aceite de copaiba, como antiinflamatorio ⁽⁴⁾. También, como

repelente de insectos ⁽⁵⁾ y en la industria cosmética en la fabricación de lociones capilares y champú ⁽⁶⁾.

En cuanto a su composición química del aceite de *copaiba*, las semillas contienen nutrientes importantes como carbohidratos en su mayor proporción, proteínas, lípidos y minerales; de igual forma la composición química del aceite de esta semilla indicó alto contenido de ácidos grasos en su mayor porcentaje insaturados y presencia de vitamina E ⁽⁷⁾. Los sesquiterpenos principales encontrados en el aceite de resina de copaiba son β -cariophileno, que ha demostrado ser antiinflamatorio, antibacteriano, antihongos y antiedémica, el aceite esencial extraído de las semillas de copaifera tiene tipo similar a la de la parte volátil del sesquiterpene aceite de resina, con sustancias tales como β -cadinol, cariophileno, J D y B y γ -cadineno ⁽⁸⁾.

En tal sentido, el estudio se organizó en cinco capítulos. En el primer **CAPÍTULO** comprende el problema, la formulación del problema, los objetivos, las variables, las hipótesis, la justificación y viabilidad de la investigación.

En el **CAPÍTULO II**, se establece el marco teórico, el cual incluye los antecedentes de investigación, las bases teóricas para el sustento del tema y las definiciones conceptuales.

En el **CAPÍTULO III**, se expone la metodología de la investigación, la cual está compuesta de las siguientes partes: nivel de investigación, tipo de estudio, diseño, población y muestra, y las técnicas de recolección y procesamiento de datos.

Así mismo, en el **CAPÍTULO IV**, lo conforma los resultados de la investigación.

El **CAPÍTULO V**, lo constituye la discusión de los resultados. Posteriormente se presentan las conclusiones y las recomendaciones. También se incluyen las referencias bibliográficas y los anexos.

El autor

IX

INDICE

	Pág.
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	III
RESUMEN	IV
SUMMARY	V
INTRODUCCIÓN	VI
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA DE INVESTIGACION	
1.1. Descripción del problema	01
1.2. Formulación del Problema	03
- Problema general	03
- Problemas específicos	03
1.3. Objetivos	04
1.4. Hipótesis	05
1.5. Variables	06
1.6. Justificación e importancia	08

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes	10
2.2. Bases teóricas	12
2.3. Definiciones conceptuales	30

CAPÍTULO III. MARCO METODOLOGICO

3.1. Tipo de investigación	31
3.2. Diseño de investigación	31
3.3. Población y muestra	32
3.4. Instrumentos de recolección de datos	34
3.5. Procedimiento	34
3.6. Análisis de datos	41

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1. Presentación y análisis descriptivo de los resultados	42
4.2. Análisis inferencial de los resultados	58

CAPÍTULO V. DISCUSION DE RESULTADOS

5.1. Discusión de los resultados	71
----------------------------------	----

CONCLUSIONES	73
---------------------	-----------

RECOMENDACIONES	74
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXOS	78

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.

Una lesión cutánea o herida es la consecuencia de una agresión, que da como resultado una solución de continuidad en los tejidos ⁽⁹⁾.

González ⁽¹⁰⁾, manifiesta que la integridad de la piel es vital para que el órgano cutáneo desarrolle las funciones de protección y de relación con el medio ambiente. La pérdida de estas funciones a causa de las lesiones, expone al organismo a severo estrés.

Para reparar las lesiones se desarrolla el proceso de cicatrización, que logra el afrontamiento de los bordes con la formación de una cicatriz. Las que curan por segunda intención, al no estar afrontados sus bordes, son las más lentas y necesitan con mayor prioridad un factor que acelere su reparación y reduzca de manera efectiva el tiempo de exposición ⁽¹¹⁾.

Eichler MJ y Carlson ⁽¹²⁾, sostienen que la cicatrización es el proceso normal que se presenta en los seres humanos para regenerar el tejido epidérmico y dérmico. Cuando un individuo presenta una herida (ruptura de un tejido intencional o accidental), una serie de eventos bioquímicos complejos se presenta para reparar el tejido dañado. Estos eventos se sobreponen entre sí temporalmente, pero para comprenderlos mejor, los explicaremos en pasos separados así: etapa inflamatoria, etapa proliferativa, y fases de remodelación.

Asimismo, Achauer y Eriksson ⁽¹³⁾, describen que la cicatrización cutánea es un proceso reparativo complejo que conduce a la regeneración del epitelio y el reemplazo de la dermis por un tejido fibroso constituido por colágeno con características diferentes al normal. Las nuevas fibras son más cortas y

desorganizadas, por lo que la cicatriz nunca presenta la fuerza tensora de la piel ilesa.

Los últimos avances en ciencia molecular han mejorado nuestro entendimiento de la cicatrización de las heridas y han facilitado la aparición de nuevas oportunidades técnicas en el tratamiento de las heridas ⁽¹⁴⁾.

Como ahora se comprenden mejor los mecanismos de la cicatrización de las heridas, los fundamentos científicos en los que basa las decisiones terapéuticas son cada vez más sólidos. También se están identificando nuevas modalidades terapéuticas, como lo que proponemos el uso del *Copaifera officinalis*, usualmente conocido en nuestro ámbito como aceite de copaiba.

La *Copaifera officinalis*, el árbol del diesel, es conocida por la producción masiva de oleoresina, principalmente compuesta por hidratos de carbono sesquiterpenos. El aceite de copaiba, producido por exudación del tronco de los árboles pertenecientes al género *Copaifera*, ha sido utilizado por sus propiedades medicinales como antiinflamatorio, balsámico, antiséptico urinario, enfermedades de la piel, úlceras y cicatrizantes de heridas ⁽¹⁵⁾.

Según investigación realizada por Guba ⁽¹⁶⁾, en 2008, los aceites esenciales no demostraron ser tóxico–carcinógenos en los animales de experimentación utilizados.

Finalmente, nos proponemos conocer el manejo adecuado que debe darse a las heridas cutáneas empleando el **Copaifera officinalis**, la cual contribuye a la cicatrización rápida y sin complicaciones.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es el efecto del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio?

1.2.2 PROBLEMAS ESPECÍFICOS

- ¿Cuál es el efecto del aceite de copaiba extraído en el laboratorio en el tiempo de cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio?
- ¿Cuál es el efecto del aceite de copaiba comercial en el tiempo de cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio?
- ¿Cuál es el efecto del producto farmacéutico hipoglós en el tiempo de cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general:

- Evaluar la efectividad del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) en la cicatrización de las heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio.

1.3.2. Objetivos específicos:

- Determinar el efecto del aceite de copaiba extraído en el laboratorio en el tiempo de cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio.
- Determinar el efecto del aceite de copaiba comercial en el tiempo de cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio
- Valorar el efecto del producto farmacéutico hipoglós en el tiempo de cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio.

1.4. HIPÓTESIS Y/O SISTEMAS DE HIPÓTESIS

1.4.1. Hipótesis general:

Ha: El aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) tiene efecto en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

Ho: El aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) no tiene efecto en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

1.4.2. Hipótesis específicas:

Ha₁: El aceite de copaiba extraído en el laboratorio disminuye el tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

Ho₁: El aceite de copaiba extraído en el laboratorio no disminuye el tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

Ha₂: El aceite de copaiba comercial disminuye el tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

Ho₂: El aceite de copaiba comercial no disminuye el tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

Ha₃: El producto comercial hipoglós disminuye el tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

Ho₃: El producto comercial hipoglós no disminuye el tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas provocadas en los ratones de laboratorio.

1.5. VARIABLES

1.5.1. Identificación de las variables

Variable dependiente:

Cicatrización de las heridas cutáneas.

Variable independiente

Aplicación del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*).

1.5.2. Operacionalización de las variables

NOMBRE	TIPO	ESCALA	CATEGORIA /VALORES	INDICADOR	FUENTE
VARIABLE DEPENDIENTE: Cicatrización de las heridas cutáneas					
Cicatrización de las heridas cutáneas	Cuantitativa	De razón	En días	Tiempo de cicatrización de las heridas cutáneas	Guía de observación
VARIABLE INDEPENDIENTE: Aplicación de <u><i>Copaifera officinalis</i></u>					
Aplicación de <u><i>Copaifera officinalis</i></u>	Cualitativa	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Aceite de copaiba extraído en el laboratorio (Grupo experimental) • Aceite de copaiba comercial (Grupo control 1) • Producto farmacéutico Hipoglós (Grupo control 2) 	Tratamiento topical de aceite de <u><i>Copaifera officinalis</i></u> cada 8 horas y 12 horas.	
VARIABLES DE CARACTERIZACION					
Sexo	Cualitativa	Nominal	Macho	Sexo	

			Hembra		Guía de observación
Peso	Cuantitativa	De razón	En gramos	Peso	
Exudado	Cualitativa	Ordinal	Ninguno Ligero Moderado Abundante	Cantidad de exudado	

1.6. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El estudio se justifica por las siguientes razones:

Porque nuestro país cuenta con una diversidad biológica muy amplia, se ve necesario estudiar una amplia gama de posibilidades de incorporar nuevas especies para obtener productos no tradicionales, especialmente el **Copaifera officinalis** considerado de mayor potencialidad en la cicatrización cutánea de gran importancia para la sobrevivencia de los seres vivos en las lesiones accidentales o quirúrgicas.

Asimismo, se considera que el **Copaifera officinalis** brinda beneficios en el ámbito medicinal y practicados en culturas ancestrales ya que tiene propiedades: Cicatrizante, desintoxicante, desinflamante. Además tiene otros beneficios para la salud, algunas bastante peculiares, como por ejemplo: cumple con la particularidad de mantener en perfecto estado nuestras vías respiratorias y articulaciones.

1.7 VIABILIDAD

El estudio de este problema de investigación es viable porque se cuenta o se tiene acceso al producto del **Copaifera officinalis**, además se cuenta

con los recursos tanto humanos como materiales y como también con los métodos y materiales necesarios para poder realizar la investigación.

1.8 LIMITACIONES

Una de las posibles limitaciones que se presentará durante el desarrollo del trabajo de investigación, es la compra de disolventes orgánicos que se utilizará durante el proceso de destilación, ya que la venta algunos de ellos como por ejemplo el N-Hexano, se encuentra restringidos por el Estado y si se desea adquirirlo es necesario un permiso especial de la Dirección Nacional Antidrogas (DINANDRO), es por ello que se optará por la compra del Eter de Petróleo cuya venta es directa.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES.

En nuestro departamento no existen publicaciones relacionados al estudio, sin embargo consideramos algunos estudios, como:

Arroyo A, Jorge et al ⁽¹⁷⁾, Determinaron la eficacia cicatrizante del aceite de copaiba obtenido de la corteza de *Copaifera officinalis*, comparado con omeprazol 20 mg, en pacientes con diagnóstico definitivo de úlcera péptica.

El diagnóstico fue tanto por exploración física como complementaria, siendo la endoscopia la técnica de elección, con evaluación pre y postratamiento con aceite de copaiba, formulada en cápsulas de 80 mg y 120 mg. El ensayo clínico incluyó 60 pacientes que voluntariamente ingresaron al programa de estudio, previa firma del consentimiento informado aprobado por el Comité institucional de Ética en Investigación. Los pacientes fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos, de 20 casos cada uno, según orden de llegada; los primeros grupos recibieron cápsulas de aceite de copaiba, en dosis de 80 y 120 mg, respectivamente; y un tercer grupo recibió omeprazol 20 mg. Los tratamientos fueron administrados en ayunas, una vez por la mañana, 30 minutos antes de la ingesta del primer alimento. Los datos fueron evaluados mediante técnicas multivariadas, considerando estadísticamente significativo $p < 0,05$. Se tuvo en cuenta el consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética en Investigación del Centro Asistencial. Se logró 65% y 75% de cicatrización de la úlcera péptica con aceite de copaiba, respectivamente, contra 100% en el grupo

de omeprazol, sin efectos adversos significativos; dos presentaron náuseas y tres epigastralgia.

Por otro lado, Francia L. ⁽¹⁸⁾, Determinó “in vitro” la actividad antimicrobiana del aceite de Copaiba (*Copaifera paupera*) obtenido del árbol del mismo nombre, frente a las bacterias patógenas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). La actividad antimicrobiana in vitro del aceite de copaiba se determinó usando la metodología de difusión en disco de Kirby-Bauer, método recomendado por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos y estandarizado para el estudio. Se logró establecer el volumen óptimo (5 microlitos) de aceite de Copaiba a impregnarse en los discos problemas para un adecuado efecto antimicrobiano y estandarización del método. La actividad antimicrobiana fue comparada utilizando los siguientes discos patrones: Ceftriaxona (30ug), Ciprofloxacina (5ug) y Gentamicina (10ug). Se logró obtener un efecto antimicrobiano adecuado con la cepa de *P. aeuroginosa*.

Del mismo modo García, R ⁽¹⁹⁾, Determinó el efecto antimicrobiano de la óleo-resina de *Copaifera officinalis* sobre las principales cepas bacterianas periodontopatógenas (ATCC) *Porphyromona gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* a diversas concentraciones. Se empleó la técnica de dilución en agar que permite hallar la concentración inhibitoria mínima. Se emplearon cepas ATCC de *Porphyromona gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* y la óleo-resina de *Copaifera officinalis* a 10 concentraciones: 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%,

3.12%, 1.56%, 0.78%. 0.39%, 0.19%. Se empleó la clorhexidina al 0.12% como control positivo, al agar schaedler puro y Tween 80 como controles negativos. Se emplearon 13 placas y se duplicó el ensayo. La concentración inhibitoria mínima para *Porphyromona gingivalis* corresponde a 1.56%. Asimismo, la concentración inhibitoria mínima para el *Fusobacterium nucleatum* corresponde a 50% de óleo-resina. La clorhexidina mostró mayor efectividad al tener efecto a una menor concentración.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. CICATRIZACIÓN DE LESIONES O HERIDAS

2.2.1.1. Definición

Los componentes tisulares involucrados en una herida cutánea y su reparación son: epidermis, dermis, apéndices cutáneos, vasos, nervios, y aquellos del tejido subcutáneo. Por ello los principales tipos celulares que participan en la cicatrización incluyen: queratinocitos epidérmicos, endotelioцитos, plaquetas, leucocitos, monocitos, fibroblastos, células del complejo pilosebáceo, neuronas y adipocitos. Además, la ruptura de la barrera cutánea permite la colonización microbiana de las estructuras subepidérmicas⁽²⁰⁾.

2.2.1.2. La respuesta inmediata

Una de las respuesta más precoces a la lesión deriva del daño causado a los vasos locales. Es necesario detener inmediatamente la hemorragia, lo que se logra por la activación y agregación de las plaquetas en la zona vascular lesionada. Ello resulta en la formación de un tapón plaquetario con la colaboración de una tupida red de fibrina insoluble que sella la solución de continuidad del vaso lesionado. Además, el coágulo sirve de matriz provisional

por la que los diversos tipos células reptan hacia sus destinos y de sustrato de fijación para diversos factores de crecimiento que cumplen su misión de manera ordenada⁽²⁰⁾. En tercer lugar, las propias plaquetas activadas son fuente importante de factores de crecimiento: factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, platelet-derived growth factor), factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF, basic fibroblast growth factor), factor de transformación de crecimiento β (TGF β , transforming growth factor- β), factor de crecimiento epidérmico (EGF, epidermal growth factor) o factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, vascular endothelial growth factor), que promueven distintos aspectos del proceso de reparación. Además de los factores de crecimiento proporcionados, en primer lugar, por las plaquetas las células de la zona herida están bañadas en otros factores presentes en el suero resultante del proceso local de la coagulación plaquetaria: interleuquinas (IL), factores estimulantes de colonias (CSF), factor de necrosis tumoral α (TNF α), interferón γ (INF γ) y otros factores que, juntos, conducen a la activación del factor de respuesta sérica (SRF). SRF es un factor nuclear o de transcripción que induce la transcripción de genes de respuesta inmediata, precoz y tardía, como fos, jun o erg⁽²¹⁾. El perfil transcripcional de heridas in vivo y el de fibroblastos expuestos a suero in vitro, revela una respuesta inmediata a la herida que se traduce en la participación de cientos de genes, unos expresándose y otros enmudeciendo, en los primeros minutos de la lesión ⁽²²⁾.

Otros factores que intervienen en la respuesta a la lesión celular incluyen señales mecánicas tensegridales que ocurren ante cambios en las tensiones tisulares; así como corrientes eléctricas que resultan de daños membranares y rupturas en la barrera epitelial. Por último, la exposición a diversos microorganismos

cuyos epítopes o patrones moleculares asociados a patógenos son reconocidos por receptores tipo Toll. La activación de receptores de reconocimiento de patrones (PRR, pattern-recognized receptors) tanto de DAMPs como de PAMPs dispara la expresión y liberación de mediadores proinflamatorios y de péptidos antimicrobianos ⁽²²⁾.

2.2.1.3. Las fases de la cicatrización

La cicatrización se divide tradicionalmente, tras un conjunto de respuestas inmediatas, en tres fases: (i) inflamatoria; (ii) proliferativa y (iii) de remodelación o maduración, aunque los procesos implicados en cada una de ellas se solapan en el tiempo y en el espacio.

a. Fase inflamatoria.

Esta fase se imbrica con el proceso de reparación de la lesión vascular que tiene como finalidad detener la hemorragia mediante la formación de un tapón plaquetario. La hemostasia es el proceso que mantiene la integridad de un sistema circulatorio cerrado que trabaja a altas presiones, tras el daño vascular⁽²³⁾.

a.1. Coagulación. Cuando la pared vascular sufre una brecha o el endotelio se lesiona, el colágeno y el factor tisular se exponen al flujo de sangre, lo que inicia la formación de un trombo⁽²³⁾.

El colágeno provoca la acumulación y la activación de las plaquetas, y el factor tisular inicia la generación de trombina que no sólo convierte fibrinógeno en fibrina sino que también activa a las plaquetas. La trombina interacciona con el receptor activado por proteasa tipo 1 (PAR, protease-activated receptor) sobre la membrana plaquetaria; la interacción activa la plaqueta que libera difosfato de

adenosina (ADP), serotonina y tromboxano A₂ (una diana para fármacos antitrombóticos como aspirina), tres potentes agonistas que activan otras plaquetas y, así, amplifican las señales protrombogénicas. Por su parte, los endotelios exponen factor von Willebrand, cofactor indispensable para el desarrollo correcto de ambas vías. Activación de las plaquetas y producción de fibrina ocurren concomitantemente para formar un coágulo estable⁽²³⁾.

El factor von Willebrand (vWF) es una glicoproteína (GP) multimérica liberada por células endoteliales y por plaquetas en respuesta a diferentes estímulos; en las primeras se almacena en cuerpos de Weibel-Palade y en las plaquetas en gránulos α . Representa dos papeles principales en la hemostasia: media la adhesión de las plaquetas al colágeno subendotelial, y estabiliza al factor VIII de la coagulación. El factor tisular es una glicoproteína membrana de células subendoteliales (miocitos de la pared vascular y fibroblastos y pericitos de la adventicia), por lo que en condiciones de integridad endotelial no se expone a la sangre. Por su gran afinidad por el factor VII de la coagulación es un potente procoagulante⁽²⁴⁾.

En condiciones normales, mecanismos reguladores controlan la formación del trombo en términos temporales y espaciales. La pared vascular con su tapiz interno endotelial es crucial para mantener un árbol vascular permeable. El endotelio produce tres tromborreguladores, óxido nítrico y prostaciclina inhiben la adhesión y agregación de las plaquetas, y ectonucleotidasa CD39 degrada ADP, un agonista trombogénico liberado por plaquetas activadas que, juntos, proporcionan una defensa eficaz contra la formación espontánea de trombos y, también, operativa en su resolución. Otro parámetro crítico en la adhesión celular vascular es el estrés de cizallamiento provocado por la sangre circulante, y

consecuencia de la velocidad de flujo, del diámetro del vaso y de la viscosidad del fluido. La velocidad de la sangre es máxima en el centro del vaso y se aproxima a cero en la pared del vaso; en consecuencia la resistencia o cizallamiento entre las láminas adyacentes de fluido que viajan a velocidades diferentes es mínima en el centro del vaso y máxima en la pared de éste. Las tasas de cizallamiento (unidades, s^{-1}) del flujo de sangre en condiciones normales varían desde $20 s^{-1}$ a $1600 s^{-1}$. Tasas superiores a los $650 s^{-1}$ se consideran elevadas; en arterias coronarias estenosadas por placas ateromatosas se pueden alcanzar $10000 s^{-1}$. El estrés de cizallamiento, el efecto de las fuerzas de desplazamiento sobre una célula adherida (fuerza por unidad de área: dinas/cm²), es un impedimento significativo para la adhesión de las células circulantes a la pared del vaso⁽²⁴⁾.

a.2. Inflamación.

La fase inflamatoria de la cicatrización comienza de inmediato con la pérdida pasiva de leucocitos circulantes, en particular neutrófilos, desde los vasos dañados hacia el lecho de la herida. También se produce una rápida activación de los inmunocitos residentes en el área dañada mastocitos, células T y $\gamma\delta$ (subconjunto de células T que participan en el contexto innato del sistema inmunológico), células de Langerhans (células presentadoras de antígenos) que, a su vez, liberan un rápido pulso de quimioquinas y citoquinas. La respuesta inflamatoria continúa con el reclutamiento activo de neutrófilos y monocitos de los vasos adyacentes, todo ello orquestado por señales emitidas por células residentes activadas y por factores séricos; por su parte, diversos DAMP potencian la señal. Juntas, esas señales activan endoteliositos locales que expresan selectinas⁽²⁴⁾. Las selectinas controlan el rodamiento, frenada y

adhesión de los leucocitos a la pared vascular (a lo que contribuyen las plaquetas ya adheridas y activadas) y, posteriormente, su trans migración a la ECM. Ello está facilitado por la vasodilatación y el incremento de la permeabilidad de la pared vascular, inducidas por moléculas proinflamatorias como óxido nítrico, histamina o activador del plasminógeno.

Los neutrófilos son activados y reclutados en unos pocos minutos, y juegan un papel decisivo en la limpieza de la herida mediante dos estrategias fundamentales, la producción masiva de radicales o especies reactivas de oxígeno (ROS, reactive oxygen species) y de proteasas y de péptidos bactericidas. Los monocitos son captados poco después e inducidos para diferenciarse en macrófagos, que expresarán diferentes programas génicos a efectos de conformar fenotipos proinflamatorios (M1) o antiinflamatorios o citoprotectores (M2), de acuerdo con el tempo cicatrizal. En resumen, la fase coágulo-inflamatoria cierra la brecha vascular y controla la hemorragia, proporciona un matriz provisional que sirve de sustrato al componente celular y facilita su movilidad y ordenación espacial y proporciona abundantes factores que abonan la regeneración del tejido lesionado, principalmente epidermis, dermis y vasos⁽²⁴⁾.

b. Fase de regeneración o proliferación.

La fase proliferativa consiste principalmente en reepitelización, la formación de tejido de granulación y neovascularización. Durante la fase inflamatoria la resistencia tisular global es mínima; los tejidos no comenzarán a recuperar su textura funcional hasta alcanzar una etapa de transición en el proceso cicatrizal. Una transición mediada por macrófagos y sus factores de crecimiento y que, generalmente, comienza a la semana de la lesión. El resultado final de esta etapa

es de vital importancia, pues establece el almacén necesario para reconstruir el tejido dañado⁽²⁴⁾.

b.1. Epitelización.

La reepitelización de una herida por queratinocitos comienza pocas horas después de su producción, y se consigue por una combinación de migración y proliferación de las células de la vecindad de la lesión. Las células que avanzan desde los bordes de la herida y desde los islotes de los folículos pilosebáceos supervivientes, lo hacen colectivamente; ello tras sufrir un número de cambios que facilitan su movimiento⁽²⁵⁾. Las células sufren una marcada alteración fenotípica cuyo origen reside en la pérdida de contacto intercelular con motivo de la solución de continuidad provocada por la herida. Retraen sus tonofilamentos intracelulares desestabilizando uniones adherentes; deshacen la mayoría de los desmosomas y hemidesmosomas, y reorganizan su componente de actina en la periferia. Ello da lugar a libertad de movimientos intercelulares y sobre el basamento dermo-epidérmico y proporciona condiciones para desplazarse. También se expresan integrinas en el polo basal del epidermiocito que permiten su interacción con una variedad de moléculas de la matriz extracelular, en especial fibronectina y vitronectina que se disponen constitutivamente entre la red del colágeno tipo I del estroma dérmico. El frente epidérmico migratorio avanza disecando la costra o coágulo organizado del tejido viable. La ruta de disección está marcada por el patrón de expresión de las integrinas sobre las superficies basales celulares; además, debe asegurarse la migración⁽²⁵⁾. Para ello, los epidermiocitos producen y liberan activador de plasminógeno que conduce a la producción de plasmina activa que degrada fibrina, y de colagenasa I o metaloproteínasa de la matriz-tipo I (MMP, matrix

metalloproteinase) que degrada colágeno tipo I dérmico; estas proteasas degradan el coágulo y la matriz extracelular, y facilitan el avance celular a modo de cuña. Otras proteasas, cómo MMP-2 (gelatinasa A) o MMP-3 (estromelina) o MMP-13 (colagena 3), colaboran en el proceso⁽¹⁷⁾.

La reepitelización es un movimiento celular colectivo. Este tipo de desplazamiento ocurre cuando dos o más células retienen sus uniones intercelulares y se mueven juntas a través de un espacio bidimensional sobre el basamento membranar o tridimensional a través de la matriz extracelular⁽²²⁾. El movimiento celular colectivo es relevante para numerosos procesos: morfogénesis, reepitelización y reparación tisular o invasión cancerosa o metástasis. La dinámica del movimiento celular colectivo origina una serie compleja de cambios en las estructuras multicelulares tisulares: regeneración epitelial, gemación neovascular en angiogénesis y ramificaciones morfogénicas, e invasión desregulada de masas celulares durante la progresión del cáncer y destrucción del tejido conectivo. De manera similar a la migración unicelular, el movimiento colectivo es consecuencia de la polimerización de actomiosina y contracción acoplada a polarización celular; sin embargo, existen algunas diferencias. La migración unicelular es un proceso cíclico de cinco pasos: polarización y protusión del borde líder o frente de avance (dirigido por el citoesqueleto de actina); fijación del borde al sustrato; degradación proteolítica de los componentes tisulares que confinan el espacio celular; contracción de actomiosina (genera tensión a lo largo del eje de desplazamiento), y, finalmente, deslizamiento frontal de la célula⁽²⁵⁾. La principal diferencia del desplazamiento colectivo es que las células mantienen intactas sus uniones intercelulares en el frente de avance y en todo el perímetro de la masa

que se desplaza. En resumen, la migración celular colectiva difiere del desplazamiento unicelular en: la polarización simultánea y coordinada de las células que forman el borde líder; translocación celular mediante el acoplamiento físico y la fuerza de arrastre; la actividad coordinada de bandas de actina en una multitud de células; la remodelación de la matriz celular a lo largo del sendero de migración que exige la formación de basamento membranar sobre el que para esas células puedan reptar y, también, horadar un túnel de perforación; por último, la retracción coordinada de las células en la retaguardia de la masa migratoria⁽²⁶⁾.

b.2. Formación de tejido de granulación.

Nuevo estroma o tejido de granulación invade el lecho de la herida a partir del 5º-6º días tras la agresión. La apariencia granular deriva de la explosión de yemas neovasculares, a las que acompañan fibroblastos y macrófagos. Las células comprometidas como queratinocitos, macrófagos y, ahora, plaquetas residuales ceban el entorno de factores de crecimiento necesarios para estimular fibroplastia y angiogénesis. Los fibroblastos producen matriz extracelular que acogerá las nuevas células formadas, y los vasos sanguíneos aportarán oxígeno y nutrientes para asegurar el metabolismo celular. Por su parte, el tejido adiposo interacciona con vasos, dermis y epidermis y, lejos de ser un espectador, produce factores de crecimiento que participan activamente en el proceso de cicatrización; en especial leptina, que promueve la reepitelización y la angiogénesis e inhibe la proliferación de fibroblastos⁽²⁶⁾.

La matriz provisional inicial de fibrina y plaquetas es reemplazada, progresivamente, por otra definitiva fabricada y excretada por los fibroblastos. Estas células excretan, primero, moléculas funcionales que proporcionan un entramado que conduce la migración celular de los queratinocitos en la epidermis y de los fibroblastos en la dermis. Las primeras incluyen fibronectina, que refuerza el papel de la fibrina preexistente en el tapón hemostático. La aparición coordinada de fibronectina dimerizada y sus receptores, que anclan los fibroblastos a su sustrato, es un paso limitante en la formación de tejido de granulación. En su proceso invasor del espacio reconstruido, los fibroblastos utilizan las mismas herramientas que los epidermiocitos para avanzar. La matriz extracelular definitiva está compuesta por proteoglicanos y proteínas fibrilares⁽²⁶⁾.

Las glicoproteínas son una clase de glicoconjugados o carbohidratos complejos; términos equivalentes para referirse a moléculas que contienen una o más cadenas de carbohidratos unidas covalentemente a un esqueleto polipeptídico glicoproteínas o proteoglicanos o lipídico (glucolípidos). Las glicoproteínas son una clase de proteínas modificadas postraduccionalmente, que contienen una o más cadenas de oligosacáridos unidas covalentemente, y cuyo contenido en carbohidratos, que varía desde 1% a 85%, puede adoptar estructuras simples o complejas. Las cadenas de oligosacáridos encierran considerable información biológica que depende de sus azúcares constituyentes, sus secuencias y su conformación. Tales cadenas son importantes para la glicoproteína en relación con la modulación de su solubilidad y viscosidad, protección frente proteólisis, acción biológica y su participación en interacciones normales y patológicas entre diferentes células. Mucinas, hormonas, factores de crecimiento o receptores, son glicoproteínas⁽²⁶⁾. De los cerca de 200 monosacáridos encontrados en la

naturaleza, sólo siete como la galactosa, glucosa, manosa, ácido acetilmurámico, fucosa, acetilgalactosamina y acetilglucosamina se encuentran en las cadenas oligosacáridas de las glicoproteínas, que suelen dividirse de acuerdo con la naturaleza del enlace entre la cadena polipeptídica y sus cadenas de oligosacáridos. La glicosilación de las glicoproteínas es un proceso complejo que implica a numerosas enzimas, cuyos déficits resultan una serie de enfermedades raras conocidas como enfermedades por depósito. Por su parte, los proteoglicanos son proteínas que incorporan, mediante enlaces covalentes, glicosaminoglicanos (GAG). Los proteoglicanos son uno de los componentes principales de la matriz extracelular que se ha de regenerar durante la cicatrización⁽²⁶⁾.

b.3. Neovascularización. La formación de nuevos vasos sanguíneos es necesaria para formar y mantener nuevo tejido de granulación. La angiogénesis es un proceso complejo que depende de la matriz extracelular en el lecho de la herida y de la migración y estimulación mitogénica de endotelios de los vasos adyacentes. La agresión provoca destrucción tisular e hipoxia. Factores angiogénicos como factores de crecimiento fibroblástico básico y ácido son inmediatamente liberados por los macrófagos tras la lesión tisular, y la producción de factor de crecimiento vascular endotelial por los epidermicitos es estimulado por la hipoxia. Enzimas proteolíticas liberadas en el tejido conectivo degradan las proteínas de la matriz extracelular. Fragmentos de esas proteínas reclutan monocitos circulantes en el sitio de la lesión que, al ser activados a macrófagos liberan factores proangiogénicos y, algunos de ellos, estimulan a las células endoteliales a liberar activador del plasminógeno y procolagenasa⁽²⁴⁾. El primero convierte plasminógeno en plasmina y la procolagenasa en colagenasa

activa; el concierto entre ambas proteasas digiere los basamentos membranares. La fragmentación de esas estructuras permite a los endotelioscitios estimulados por los factores angiogénicos migrar y formar nuevos vasos en la nueva matriz producida. Una vez que el lecho de la herida ha sido rellenado por la matriz definitiva, la angiogénesis cesa y muchos de los nuevos vasos se desintegran fruto de apoptosis. Esta muerte celular programada está probablemente regulada por una serie de moléculas de la matriz como trombospondina y factores antiangiogénicos como angiostatina, endostatina y angiopoyetina. A la par de la vasculogénesis sanguínea se lleva a cabo la regeneración de los vasos linfáticos⁽²⁶⁾.

c. Fase de remodelación.

En tejidos que han curado mediante cicatrización primaria ocurre muy poca remodelación debido a la exigua cantidad de ECM producida. Como consecuencia de ello no hay escara y el tejido reparado es virtualmente indistinguible del tejido normal. La cicatrización secundaria, por el contrario, implica alineamiento fibrilar y contracción celular para reducir el tamaño de la herida y restablecer la resistencia mecánica tisular. El objetivo principal de la remodelación cicatrizal es reducir el exceso de matriz extracelular producida y conseguir su alineamiento mediante contracción⁽²⁶⁾.

c.1. Contracción.

La contracción del lecho de la herida implica una compleja orquestación de interacciones entre células, matriz extracelular y citoquinas. Tras los acontecimientos iniciales del proceso cicatrizal, los fibroblastos se diferencian en miofibroblastos contráctiles y secretores que contribuyen a la reparación tisular, aunque pueden conducir a graves alteraciones funcionales cuando la

contracción y la secreción de matriz extracelular son excesivas, tales como en cicatrices hipertróficas, escleroderma o enfermedad de Dupuytren, y también en condiciones, por ejemplo, de fibrosis cardíaca o renal. Además, miofibroblastos presentes en la denominada reacción del estroma a tumores epiteliales pueden promover la progresión cancerosa⁽²⁶⁾.

En condiciones normales los fibroblastos prácticamente carecen de cualquier tipo de contactos estables célula-célula o célula-matriz extracelular asociados a actina intracelular (a diferencia de los contactos adherentes entre epidermiocitos). Tras una herida, los fibroblastos, activados por citoquinas y factores de crecimiento secretados por células inflamatorias y residentes activadas, migran a la zona de tejido lesionado para verter en el lecho dañado matriz extracelular. Otro estímulo importante para esta transición fenotípica es el cambio en las condiciones mecánicas microambientales; mientras en condiciones normales los fibroblastos están protegidos de cualquier estrés de tensión por la estructura de la matriz extracelular, esta protección se pierde en la matriz en proceso de remodelación del tejido dañado. En respuesta a los cambios mecánicos, los fibroblastos adquieren fibras contráctiles de respuesta al estrés mecánico y compuestas primariamente por actinas citoplásmicas; una característica distintiva de los protomioblastos. Estas fibras de estrés se conectan a proteínas de la matriz extracelular a través de uniones célula-matriz que contienen integrinas, y de otras intercelulares, tipo uniones adherentes, que contienen cadherinas. El mantenimiento de la tensión, ahora transmitido a la célula a través de las diferentes uniones, pone en marcha el programa de diferenciación miofibroblástica caracterizado por la expresión de α -actina de músculo liso (α -SMA, smooth muscle actin). Al menos se necesitan tres

acontecimientos locales para generar miofibroblastos diferenciados α -SMA positivos: acumulación de TGF β 1; presencia de proteínas especializadas de la ECM, especialmente fragmentos de fibronectina, y marcado estrés o tensión en la ECM. La mecanopercepción está mediada por uniones célula-matriz especializadas denominadas fibronexos o adhesiones focales supermaduras, en las que dominan especies moleculares de cadherinas adaptadoras (vinculina, talina y otras), reforzadas con integrinas y a las que se ancla el citoesqueleto de actina. La α -SMA puede considerarse una proteína mecanosensible, y el citoesqueleto de los miofibroblastos funciona como un mecanotransductor que traslada la señal mecánica, la tensión de la ECM, en otras bioquímicas que implican vías quinásicas implicadas en el proceso contráctil al acoplar actina y miosina. Los miofibroblastos trabajan como verdaderos sistemas de tracción que aproximan los bordes de la herida y soportan la tensión, hasta que las fibras de colágeno soportan la estructura. Ello es, al concluir el proceso de reparación y una vez reconstruida la ECM, ésta absorbe de nuevo la tensión, con lo que el miofibroblasto, libre de estrés, recupera el fenotipo original⁽²⁶⁾.

La remodelación del colágeno durante la transición desde tejido de granulación a la cicatriz es dependiente de la síntesis y catabolismo continuos del colágeno. La degradación del colágeno en la cicatriz está controlada por varias enzimas proteolíticas denominadas metaloproteinasas de la matriz, que son secretadas por macrófagos, epidermiocitos, endotelios y los propios fibroblastos. En las diferentes fases de la cicatrización se utilizan distintas combinaciones de metaloproteinasas y sus respectivos inhibidores. La tasa a la que la cicatriz gana resistencia tensil es muy lenta y refleja una mucho más lenta tasa de acumulación de colágeno y, más importante, de remodelación del colágeno con

la formación de cada vez mayores haces de fibras que incrementan el número de interconexiones intermoleculares. Sin embargo, las heridas nunca recuperan la resistencia mecánica de la piel normal ⁽²⁶⁾.

2.2.2. *Copaifera officinalis*. (COPAIBA)

2.2.2.1. Botánica El canime o copaiba (*Copaifera officinalis*), es un árbol de tronco recto con superficie rugosa que puede alcanzar entre 20 y 30 metros de altura, sus flores son blancas, pequeñas, bisexuales y olorosas, su fruto es dehiscente en dos valvas de color marrón; las semillas son ovoides y pequeñas, de color negro, se encuentran de 1 a 2 envueltas en un arilo de color amarillo; este árbol es originario de Sur América pero también se encuentra en Puerto Rico y Hawaii, es propio de climas tropicales húmedos y secos, de cuya madera se construyen embarcaciones. El *Copaifera officinalis* es un árbol que pertenece a la familia Caesalpiniaceae y al género *Copaifera*; existen cerca de 70 especies de este género, las cuales han sido utilizadas ampliamente como árbol maderable y como productor de aceite extraído de la resina del tronco que ha sido utilizado como fijador de aromas en perfumes, jabones y en la medicina tradicional como antiinflamatorio y analgésico, antiséptico y cicatrizante de heridas ⁽²⁷⁾.

2.2.2.2. Composición química

La composición química del *Copaifera officinalis* es compleja y varía en función del órgano o parte de la planta. Los frutos contienen aceite esencial (3 a 5%) donde predominan componentes como α - y β -felandreno, bespatuleno, D-limoneno, silvestreno, α - y β -pineno, perillaldehído, carvacrol, mirceno, canfeno, o-etil-fenol, p-cimeno y p-cimol como componentes mayoritarios. La corteza

contiene aproximadamente un 23% de taninos y gomoresina (55% de resina y 40% de goma). Las hojas contienen entre 0,2 y 1% de aceite esencial (con predominio de felandreno y carvacrol), flavonoides (miricetina, quercetina, kaempferol), proantocianidinas, ácidos grasos y esteroides. Las semillas secas contienen aproximadamente un 8% de proteínas y un 10% de lípidos⁽¹⁹⁾.

Los frutos contienen una oleoresina de la que se han aislado diversos triterpenos. Estos son mayoritariamente tetracíclicos, derivados del eufano (20R) y tirucallano (20S), y en general poseen funciones alcohol o ceto en C-3, aldehído en C-21 y ácido ó éster en C-27.

2.2. DEFINICIÓN CONCEPTUAL

Aceites esenciales: se trata de mezclas complejas de sustancias orgánicas volátiles, de origen vegetal, que en su mayoría se obtienen por destilación ⁽¹⁶⁾.

Cicatrización: es la reparación de una herida bajo una integración de procesos interactivos y dinámicos, cuya secuencia se superpone en el tiempo ⁽²⁸⁾.

Queloides: caracterizados por la acumulación excesiva de colágeno, son ejemplos representativos de trastornos fibroproliferativos.

***Copaifera officinalis*:** es una especie vegetal muy difundida siendo su desarrollo óptimo en los climas tropicales, se conoce en el Perú como copaiba ⁽²⁹⁾.

CAPÍTULO III
MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es un estudio **experimental**, porque se manipuló la variable independiente cuando se usó como tratamiento el aceite de copaiba (**Copaifera officinalis**) en las heridas cutáneas provocadas.

Es un estudio **comparativo**, porque se trabajó con un grupo experimental y dos grupos control.

Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registros de la información, el estudio fue **prospectivo**, porque se captó la información después de la planeación.

Según el periodo y secuencia del estudio; el estudio fue **longitudinal**, porque las variables involucradas se midieron en dos o más ocasiones.

3.2. DISEÑO Y ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño y esquema de investigación fue como se muestra a continuación:

GRUPO	TRATAMIENTO	DESPUES
G₁	X₁	O₁
G₂	X₂	O₂
G₃	X₃	O₃

Dónde:

G₁: Grupo experimental

G₂: Grupo control 1

G₃: Grupo control 2

X₁: Tratamiento topical con aceite de copaiba extraído en el laboratorio

X₂: Tratamiento topical con aceite de copaiba comercial

X₃: Tratamiento topical con producto comercial cicatrizante (Hipoglós)

O₁, O₂ y O₃: Observación después del tratamiento.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población de estudio estuvo compuesta por un total de 60 ratones de laboratorio de la cepa BALB/c (*Mus musculus*).

3.3.1. Características de la Población.

a. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión: Se incluyeron en el estudio:

- Ratones experimentales de laboratorio.
- Ratones de ambos sexos.
- Ratones de edad adulta.

Criterios de exclusión: Se excluyeron del estudio:

- Ratones que presenten problemas de salud.
- Ratones domésticos

b. Delimitación geográfico-temporal y temática.

La investigación se realizó en el laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán de Huánuco, durante el periodo noviembre 2014 a marzo del 2015.

3.3.2. Muestra

El tamaño de la muestra del estudio estuvo representado por el total de la población muestral de 60 ratones de laboratorio seleccionados por conveniencia.

Sin embargo, los ratones fueron asignados aleatoriamente a los tres grupos de investigación, como se indica a continuación:

Grupos de Estudio	Número de animales
Tratamiento con aceite de copaiba extraído en el laboratorio	20 animales entre machos y hembras
Tratamiento con aceite de copaiba comercial	20 animales entre machos y hembras
Tratamiento con producto farmacéutico cicatrizante (hipoglós)	20 animales entre machos y hembras

Dichos grupos de estudio fueron subdivididos en subgrupos de acuerdo al tiempo de tratamiento es decir un grupo fue tratado cada 8 horas y otro grupo cada 12 horas de tratamiento topical, cada subgrupo estuvo conformado por 10 animales respectivamente.

Grupos de Estudio	Tratamiento cada 8 horas	Tratamiento cada 12 horas
Tratamiento con aceite de copaiba extraído en el laboratorio	10 animales	10 animales
Tratamiento con aceite de copaiba comercial	10 animales	10 animales
Tratamiento con producto farmacéutico cicatrizante (hipoglós)	10 animales	10 animales

3.4. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica utilizada fue:

- Observación

El instrumento fue:

- **Guía de observación**; con el fin de recolectar datos relacionados a las características generales y el seguimiento de proceso de cicatrización de las heridas cutáneas provocadas (Anexo 01).

3.5. Procedimiento Metodológico

Los procedimientos en el desarrollo del trabajo de investigación fueron:

- Una vez que se determinó nuestras unidades de estudio y repartidos en sus respectivos grupos se procedió a ocasionar heridas a través de un corte de aproximadamente 1mm de profundidad y 1 cm de longitud sobre la piel del lomo de nuestras unidades experimentales, posteriormente dichas injurias fueron tratadas tópicamente con hisopados de: aceite de copaiba extraído en el laboratorio, aceite de copaiba comercial y producto farmacéutico cicatrizante respectivamente.

- Luego de ese primer tratamiento, se tuvo en cuenta el tiempo entre cada tratamiento es decir cada 8 horas y 12 horas para cada grupo respectivamente.
- Las heridas tratadas con cada producto mencionado anteriormente fueron evaluadas minuciosa y diariamente, teniendo en cuenta los siguientes criterios:
 - ✓ Presencia de exudado en las heridas, teniendo en cuenta el día de tratamiento.
 - ✓ Tipo de tejido cicatricial que estuvo presentes en el lecho de las úlceras para cada grupo de estudio. Estos tejidos cicatriciales se evaluaron de la siguiente manera:
 - (4): Si hay algún tipo de tejido necrótico presente
 - (3): Si hay algún tipo de esfacelo presente
 - (2): Si la herida está limpia o contiene algún tejido de granulación
 - (1): Si la herida está reepitelizándose
 - (0): Si la herida está cerrada.
- Se tuvo en cuenta los conceptos mencionados anteriormente:
 - a) Tejido Necrótico (Costra Seca o Húmeda):**

Tejido oscuro, negro o marrón que se adhiere firmemente al lecho o a los bordes de la herida que puede ser más fuerte o débil que la piel perilesional.
 - b) Esfacelos:**

Tejido amarillo o blanco que se adhiere al lecho de la úlcera en bandas de aspecto fibroso, bloques o en forma de tejido blando muciforme adherido.

c) Tejido de granulación:

Tejido rojo o rosáceo con una apariencia granular húmeda y brillante.

d) Tejido epitelial:

En úlceras superficiales nuevo tejido (o piel) rosado o brillante que crece de los bordes de la herida o en islotes en la superficie de la misma.

e) Cicatrizado/reepitelizado:

La herida está completamente cubierta de epitelio (nueva piel).

- Durante el estudio se tomó muestras de piel de nuestras unidades experimentales con la finalidad de realizar cortes histológicos y determinar histológicamente el progreso de la cicatrización. Asimismo se tomó registros fotográficos.

3.6. Destilación del aceite de copaiba (Copaifera officinalis)

El aceite de copaiba se extrajo de las semillas, ya que éstas contienen el mayor porcentaje de aceite (10%), mientras que las hojas proporcionan solamente un 2%.

Las semillas fueron recolectadas de los árboles del Copaifera, luego las semillas fueron sometidas a trituración y almacenadas en recipientes metálicos, con la finalidad de evitar el crecimiento de hongos.

Estos recipientes fueron trasladados al laboratorio para los procesos de destilación.

Proceso de Destilación:

Se tuvo en cuenta dos tipos de destilaciones:

- Destilación Soxhlet
- Destilación Simple

Destilación Soxhlet:

Llamada también extracción sólido-líquido, que consiste en una transferencia de masa, donde un disolvente extrae selectivamente el soluto que se halla dentro de una matriz sólida. Para la presente investigación se utilizó como disolvente al éter de petróleo.

Este proceso consistió en:

- a) Las semillas trituradas y secadas, se colocaron en la cápsula o dedal de extracción (celulosa) con los que cuenta el destilador Soxhlet, que alberga aproximadamente 27 gramos de la muestra, posteriormente se le colocó una cubierta de algodón.
- b) Una vez realizada esta operación la cápsula que contiene las semillas trituradas fueron colocadas en la cámara de extracción con el que cuenta el destilador.

- c) Una vez colocada la cápsula en la cámara de extracción se agregó a ésta el disolvente orgánico, que en este caso utilizamos éter de petróleo en un volumen de 100 ml.
- d) Instalamos, los demás accesorios con los que cuenta el destilador como son el tubo refrigerante.
- e) Posteriormente sometimos a una fuente calórica en este caso utilizamos una plancha eléctrica, la cual calentará el disolvente orgánico, cuyos vapores se condensarán en el refrigerante.
- f) En el momento en que la cámara de extracción se llene con el disolvente y llegue a la parte superior de sifón, el disolvente drenará hacia el matraz. Este proceso se repetirá continuamente de tal manera que cada vez se extrae mayor cantidad de aceite esencial.

El esquema de dicho proceso se puede observar en la siguiente figura:

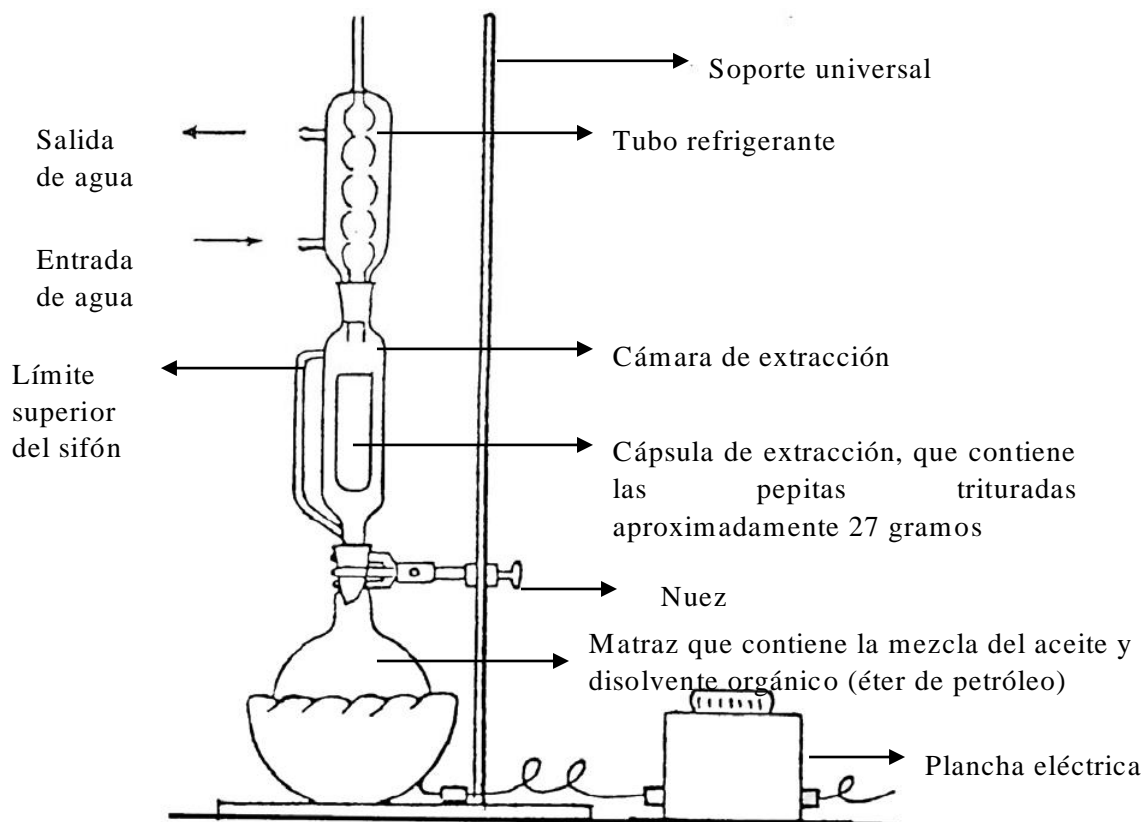


Figura 1. Extracción continua en Soxhlet

Durante este proceso se obtuvo el aceite esencial del **Copaifera officinalis** mezclado con el disolvente orgánico, pero para poder separarlo de éste es necesario utilizar la destilación simple.

Destilación simple:

- La mezcla que se obtuvo por la destilación Soxhlet, se colocó en un matraz con fondo plano, la cual estuvo conectada con el tubo de refrigeración. Dicho matraz que contenía la mezcla fue sometida a la fuente calórica, con la finalidad de evaporar y recuperar el disolvente orgánico y quedarnos con el aceite esencial.
- Al otro extremo del tubo de refrigeración se preparó una bandeja con hielo donde se colocó el matraz que albergó el disolvente, cabe resaltar que se hizo uso del hielo, ya que el disolvente utilizado como es el éter

de petróleo, es muy volátil a la temperatura ambiente, evitando así que este se pierda o volatilice.

- Finalmente en el matraz que se encuentra sometido a la fuente calórica colectará al aceite esencial extraído.
- Dicho procedimiento se puede observar en la siguiente figura:

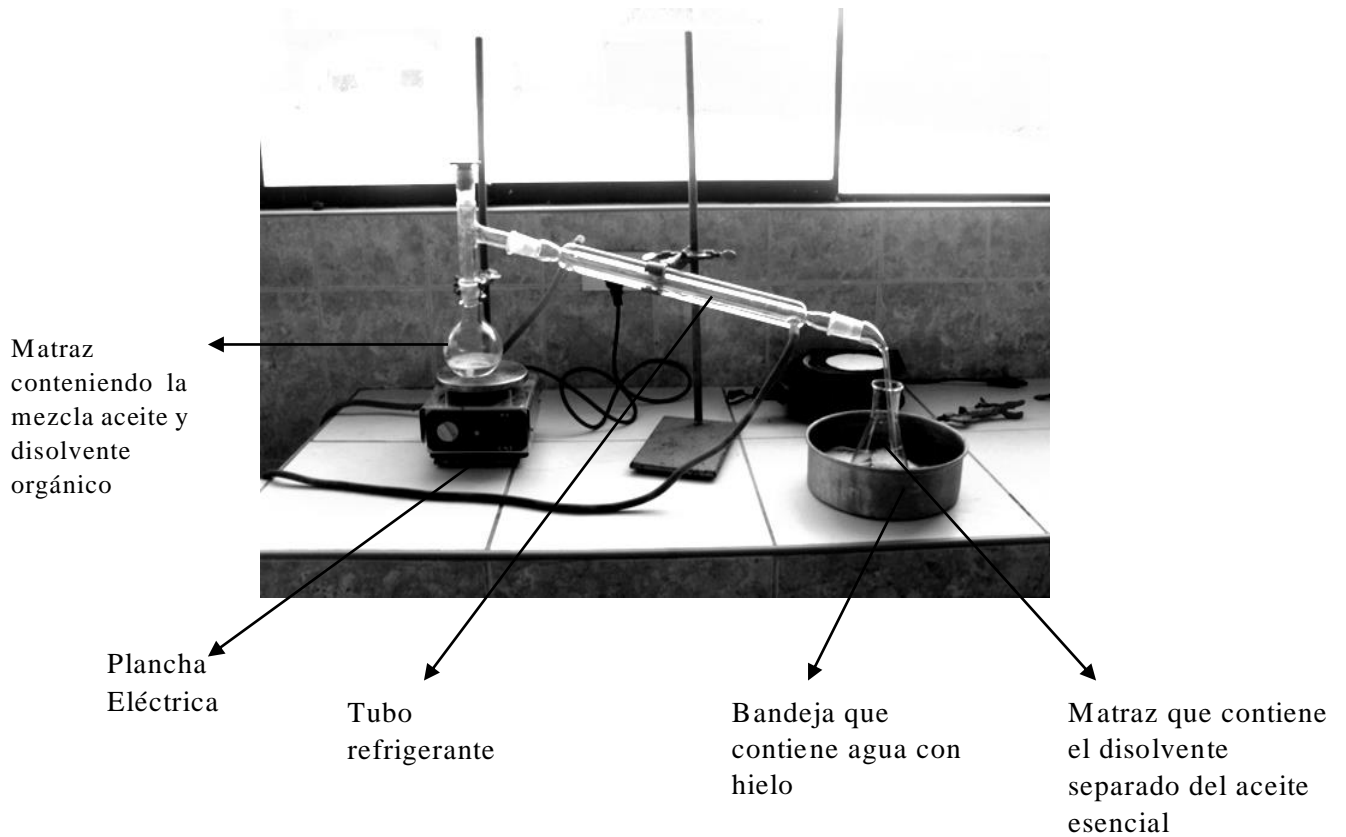


Fig.2. Proceso de Destilación simple

- Una vez obtenido el aceite esencial necesario; éste fue utilizado para el tratamiento topical de nuestras unidades experimentales.

3.7. ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis descriptivo de los datos se utilizó estadísticas de tendencia central y de dispersión como la media, desviación estándar y los porcentajes.

En la comprobación de la hipótesis, en primer lugar se realizó un análisis bivariado mediante la Prueba de T de Student para variables cuantitativas. Además se tuvo en cuenta el análisis multivariado mediante el ANOVA y contrastes a posteriori mediante la Prueba TUKEY. En el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 20,0.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS

4.1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES:

Tabla 01. Sexo de los ratones de laboratorio según grupos de estudio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015.

Sexo	Total	Grupo Experimental 1		Grupo Experimental 2		Grupo Control	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Macho	30	10	50,0	10	50,0	10	50,0
Hembra	30	10	50,0	10	50,0	10	50,0
Total	60	20	100,0	20	100,0	20	100,0

Fuente: Guía de observación (Anexo 01).

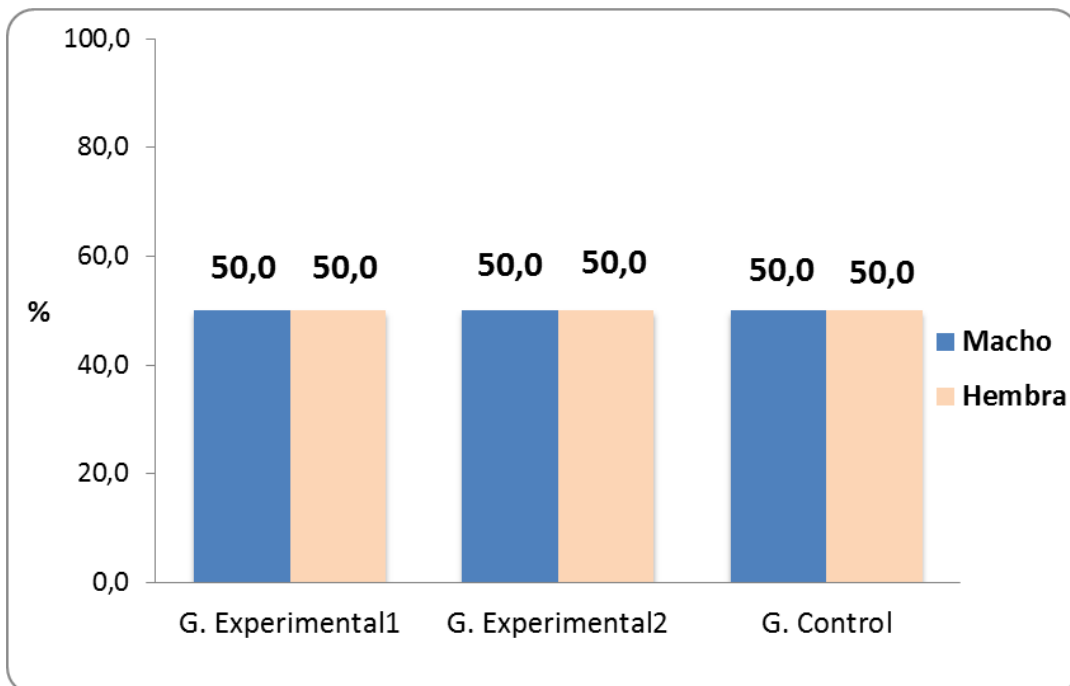


Gráfico 01. Porcentaje de ratones de laboratorio según sexo y grupos de estudio. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015.

En cuanto al sexo de los ratones de laboratorio en estudio, se encontró que del total de la muestra de 60 ratones, estas fueron distribuidos en 30 ratones machos y 30 ratones hembras, y que por cada grupo de estudio tanto experimental 1, experimental 2 y control correspondieron 10 machos y también 10 hembras, cada una; representando el 50,0% de los ratones por cada grupo y sexo.

Tabla N° 02. Peso en gramos de ratones de laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia según grupos de estudio. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Peso en gramos	Total	Grupo Experimental		Grupo Control1		Grupo Control2	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
28	17	6	30,0	5	25,0	6	30,0
29	19	6	30,0	8	40,0	5	25,0
30	24	8	40,0	7	35,0	9	45,0
Total	60	20	100,0	20	100,0	20	100,0

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

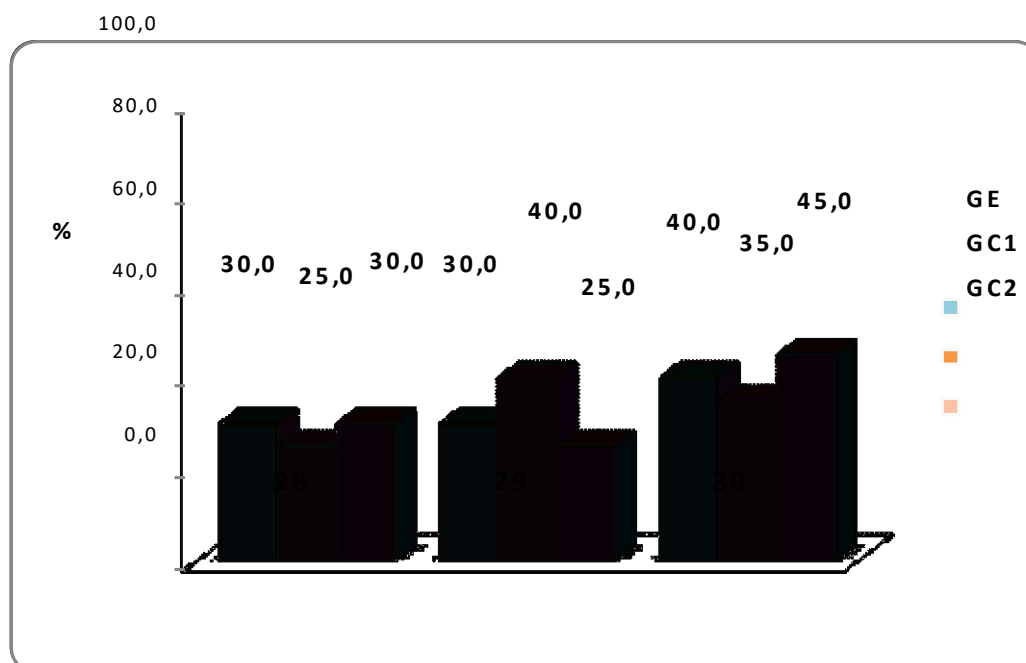


Gráfico N° 02. Porcentaje de ratones de laboratorio según peso en gramos y grupos Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

En relación al peso en gramos de los ratones en estudio, en el grupo experimental hallamos que el 40,0% (8 ratones) pesaron alrededor de 30 gramos y el 30,0% (6 ratones) de 28 y 29 gramos, cada una. En el grupo control 1, el 40,0% (8 ratones) pesaron alrededor de 29 gramos; el 35,0% (7 ratones) de 30

gramos y el 25,0% (5 ratones) alrededor de 28 gramos. En el grupo control 2, el 45,0% (9 ratones) tuvieron peso alrededor de 30 gramos; el 30,0% (6 ratones) de 28 gramos y el 25,0% (5 ratones) de 29 gramos.

4.1.2. CARACTERÍSTICAS DE LA CICATRIZACIÓN SEGÚN TIPO DE TEJIDO

Tabla N° 03. Tiempo en días de aparición del tejido necrótico de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de aparición del tejido necrótico	Total	Grupo Experimental				Grupo Control1				Grupo Control2			
		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1 a 2	29	3	15,0	8	40,0	0	0,0	5	25,0	7	35,0	6	30,0
3 a 4	30	6	30,0	2	10,0	10	50,0	5	25,0	3	15,0	4	20,0
5 a 6	1	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Total	60	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

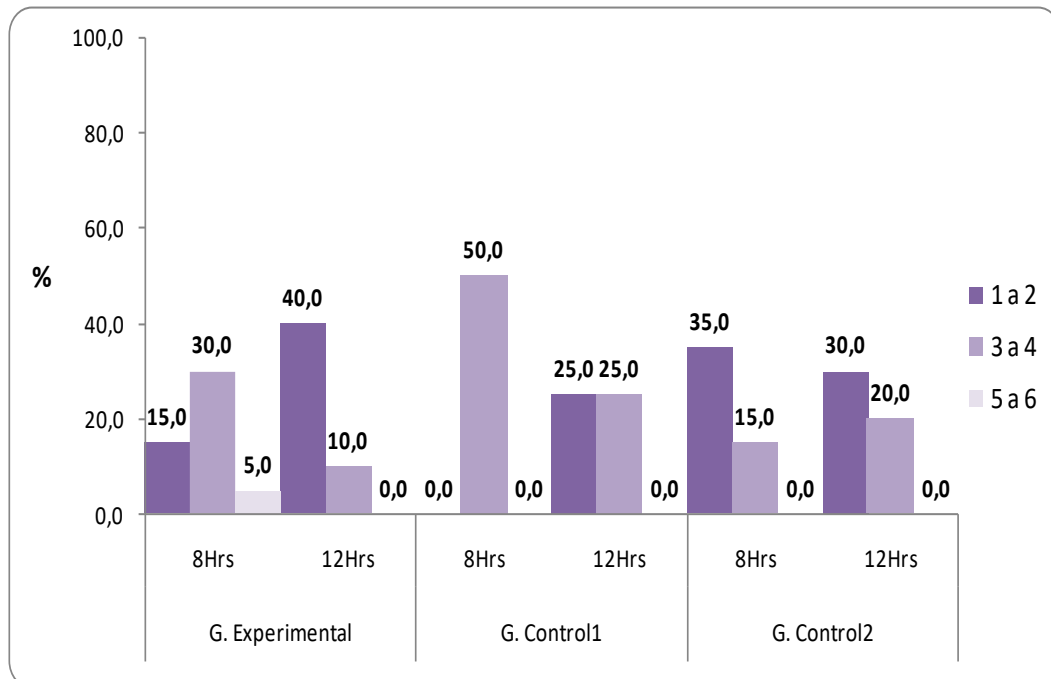


Gráfico N° 03. Porcentaje de ratones de laboratorio según tiempo en días de aparición del tejido necrótico, grupos y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Respecto al tiempo en días de aparición del tejido necrótico de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio, observamos en el grupo experimental el 30,0% (6 ratones) fue entre 3 a 4 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 40,0% (8 ratones) fue entre 1 a 2 días.

En el grupo control 1, el 50,0% (10 ratones) entre 3 a 4 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 25,0% (5 ratones) fue entre 1 a 2 y 3 a 4 días, cada una. En el grupo control 2, el 35,0% (7 ratones) fue entre 1 a 2 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 30,0% (6 ratones) también entre 1 a 2 días.

Tabla N° 04. Tiempo en días de aparición de esfacelos de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de aparición de esfacelos	Total	Grupo Experimental				Grupo Control1				Grupo Control2			
		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2 a 4	20	1	5,0	6	30,0	1	5,0	1	5,0	6	30,0	5	25,0
5 a 7	39	8	40,0	4	20,0	9	45,0	9	45,0	4	20,0	5	25,0
8 a 10	1	1	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Total	60	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

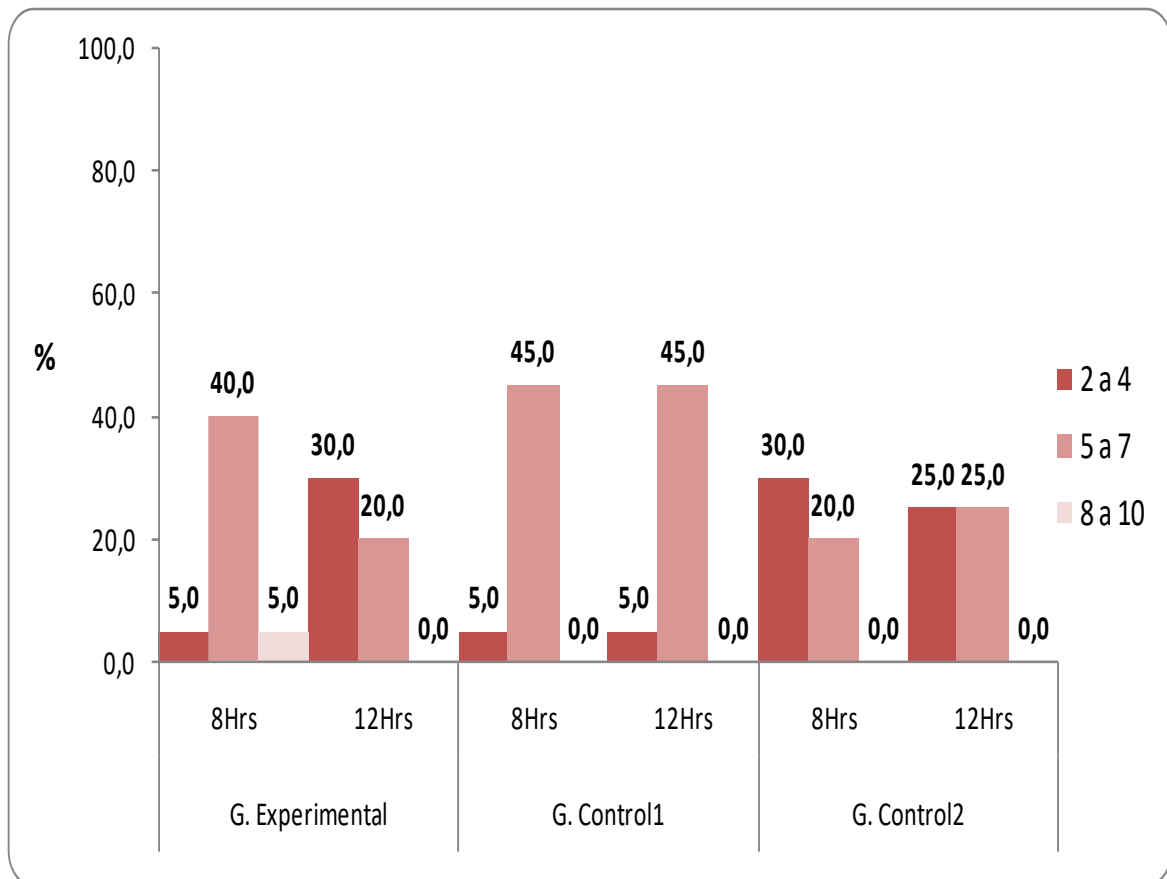


Gráfico N° 04. Porcentaje de ratones de laboratorio según tiempo en días de aparición de esfacelos, grupos y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

En relación al tiempo en días de aparición de esfacelos de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio, observamos en el grupo experimental el 40,0% (8 ratones) se ubicaron en el rango entre 5 a 7 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 30,0% (6 ratones) fue entre 2 a 4 días.

En el grupo control 1, el 45,0% (9 ratones) fue entre 5 a 7 días tanto con tratamiento de 8 horas y de 12 horas, cada una. Y, en el grupo control 2, el 30,0% (6 ratones) entre 2 a 4 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 25,0% (5 ratones) entre 2 a 4 y 5 a 7 días, cada una.

Tabla N° 05. Tiempo en días de aparición del tejido de granulación de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de aparición del tejido de granulación	Total	Grupo Experimental				Grupo Control1				Grupo Control2			
		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
5 a 7	19	3	15,0	7	35,0	1	5,0	0	0,0	6	30,0	2	10,0
8 a 10	39	6	30,0	3	15,0	9	45,0	9	45,0	4	20,0	8	40,0
11 a 13	2	1	5,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	0	0,0	0	0,0
Total	60	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

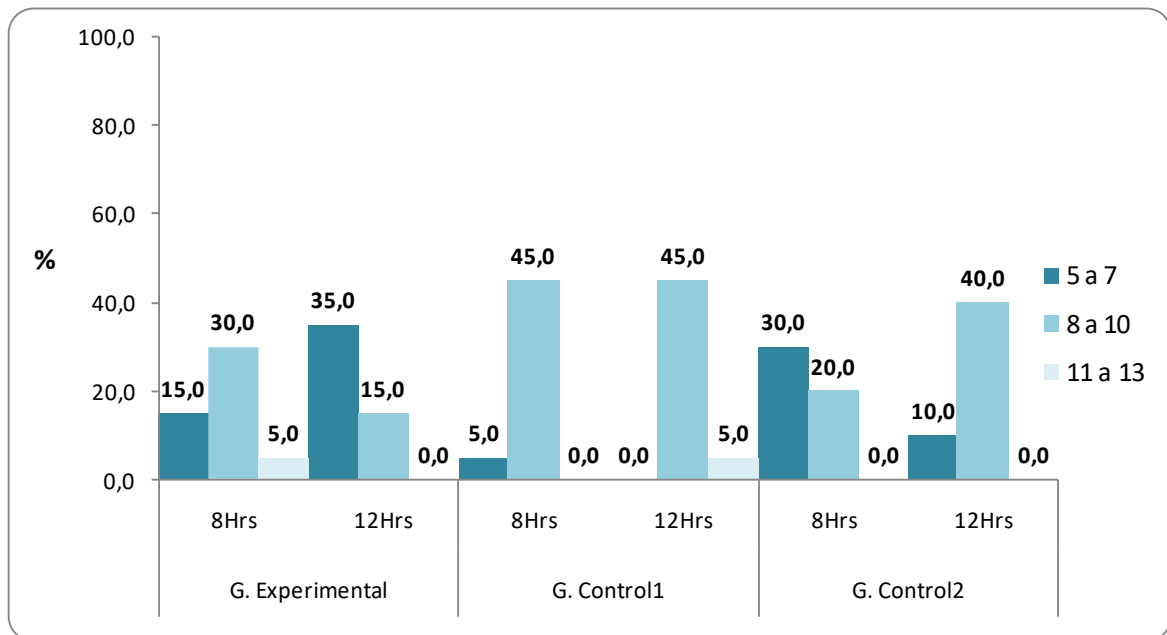


Gráfico N° 05. Porcentaje de ratones de laboratorio según tiempo en días de aparición del tejido de granulación, grupos y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

En cuanto al tiempo en días de aparición del tejido de granulación de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio, observamos en el grupo experimental el 30,0% (6 ratones) estuvieron entre 8 a 10 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 35,0% (7 ratones) fue entre 5 a 7 días.

En cambio, en el grupo control 1, el 45,0% (9 ratones) fue entre 8 a 10 días tanto con tratamiento de 8 y de 12 horas, cada una. En el grupo control 2, el 30,0% (6 ratones) entre 5 a 7 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 40,0% (8 ratones) fue entre 8 a 10 días.

Tabla N° 06. Tiempo en días de aparición del tejido epitelial de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de aparición del tejido epitelial	Total	Grupo Experimental				Grupo Control1				Grupo Control2			
		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
8 a 10	7	1	5,0	6	30,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
11 a 13	38	5	25,0	4	20,0	6	30,0	5	25,0	9	45,0	9	45,0
14 a 16	15	4	20,0	0	0,0	4	20,0	5	25,0	1	5,0	1	5,0
Total	60	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

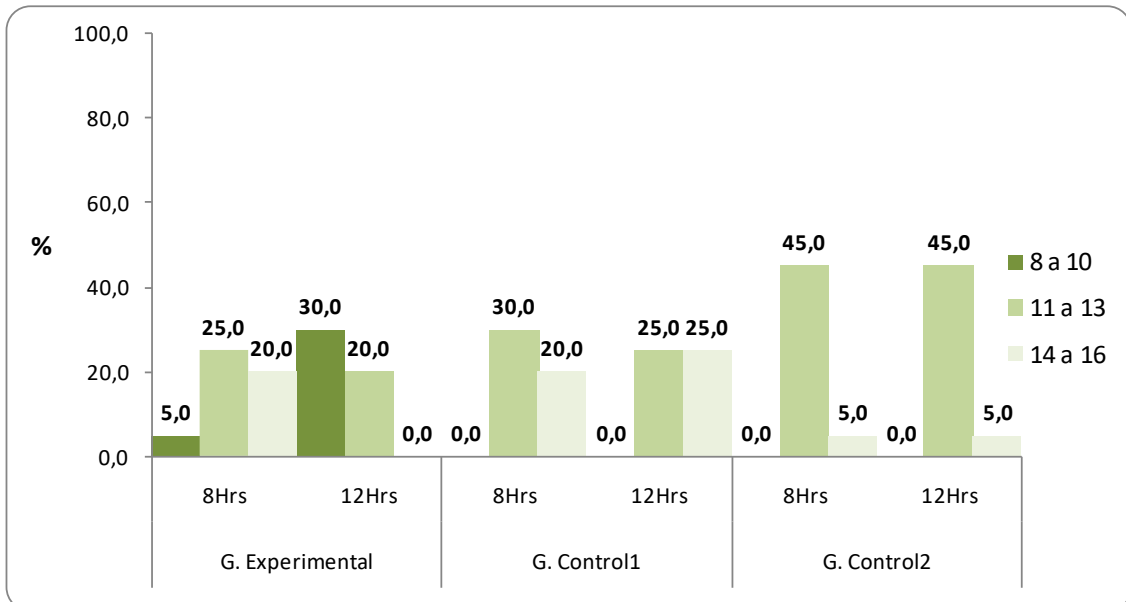


Gráfico N° 06. Porcentaje de ratones de laboratorio según tiempo en días de aparición del tejido epitelial, grupos y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Concerniente al tiempo en días de aparición del tejido epitelial de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio, observamos en el grupo experimental el 25,0% (5 ratones) fue entre 11 a 13 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 30,0% (6 ratones) fue entre 8 a 10 días. En el grupo control 1, el 30,0% (6 ratones) entre 11 a 13 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 25,0% (5 ratones) fue entre 11 a 13 y 14 a 16 días, cada una. En el grupo control 2, el 45,0% (9 ratones) fue entre 11 a 13 días tanto con tratamiento de 8 y de 12 horas, cada una.

Tabla N° 07. Tiempo en días de la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de aparición del cicatrizado / reepitelizado	Total	Grupo Experimental				Grupo Control1				Grupo Control2			
		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
13 a 14	12	0	0,0	10	50,0	0	0,0	0	0,0	1	5,0	1	5,0
15 a 16	34	10	50,0	0	0,0	4	20,0	7	35,0	6	30,0	7	35,0
17 a 18	14	0	0,0	0	0,0	6	30,0	3	15,0	3	15,0	2	10,0
Total	60	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

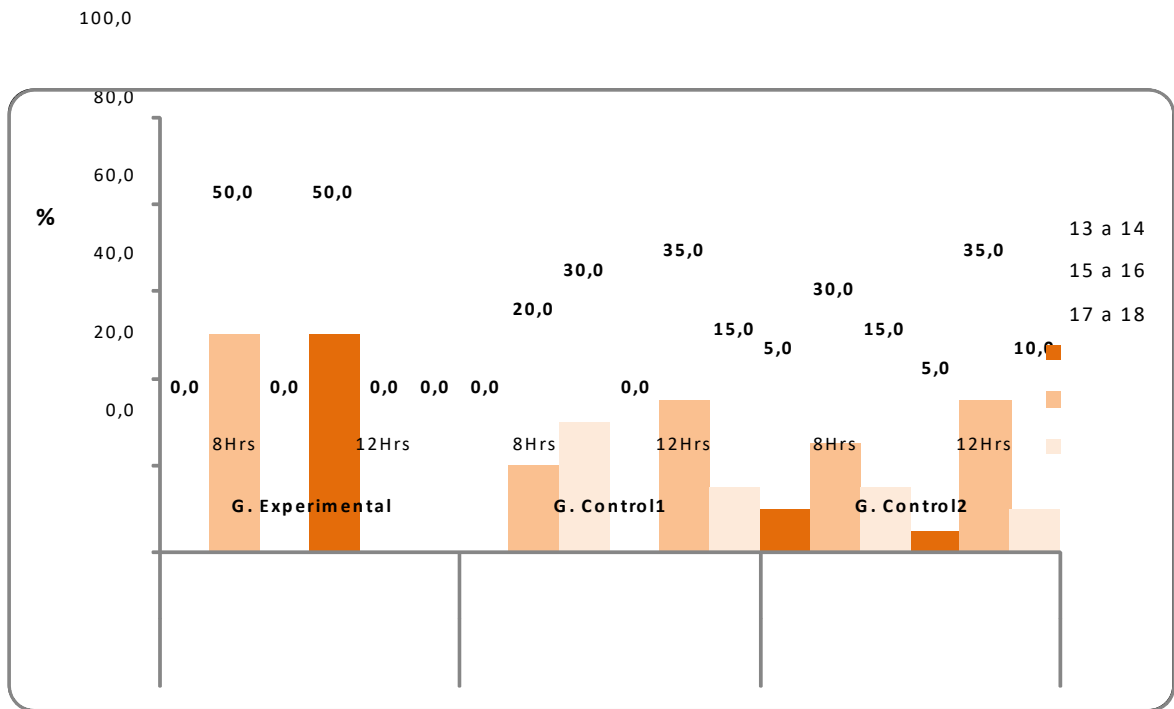


Gráfico N° 07. Porcentaje de ratones de laboratorio según tiempo en días de la cicatrización de heridas, grupos y tiempo de tratamiento Universidad Nacional Hermilio Valdizán – Huánuco 2015

Respecto al tiempo en días de la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio, observamos en el grupo experimental que el 50,0%

(10 ratones) estuvieron entre 15 a 16 días con tratamiento de 8 horas y el 50,0% (10 ratones) fue entre 13 a 14 días con tratamiento de 12 horas.

En cambio, en el grupo control 1 el 30,0% (6 ratones) cicatrizaron entre 17 a 18 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 35,0% (7 ratones) fue entre 15 a 16 días.

En el grupo control 2 el 30,0% (6 ratones) fue entre 15 a 16 días con tratamiento de 8 horas y con tratamiento de 12 horas el 35,0% (7 ratones) también fue entre 15 a 16 días.

4.1.3. CARACTERÍSTICAS DEL EXUDADO DE LA HERIDA CUTANEA PROVOCADA:

Tabla N° 08. Cantidad de exudado de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Cantidad de exudado	Total	Grupo Experimental				Grupo Control1				Grupo Control2			
		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs		8 hrs		12 hrs	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Ninguno	20	0	0,0	10	50,0	0	0,0	0	0,0	5	25,0	5	25,0
Ligero	22	5	25,0	0	0,0	0	0,0	7	25,0	5	25,0	5	25,0
Moderado	13	5	25,0	0	0,0	5	25,0	3	15,0	0	0,0	0	0,0
Abundante	5	0	0,0	0	0,0	5	25,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Total	60	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0	10	50,0

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

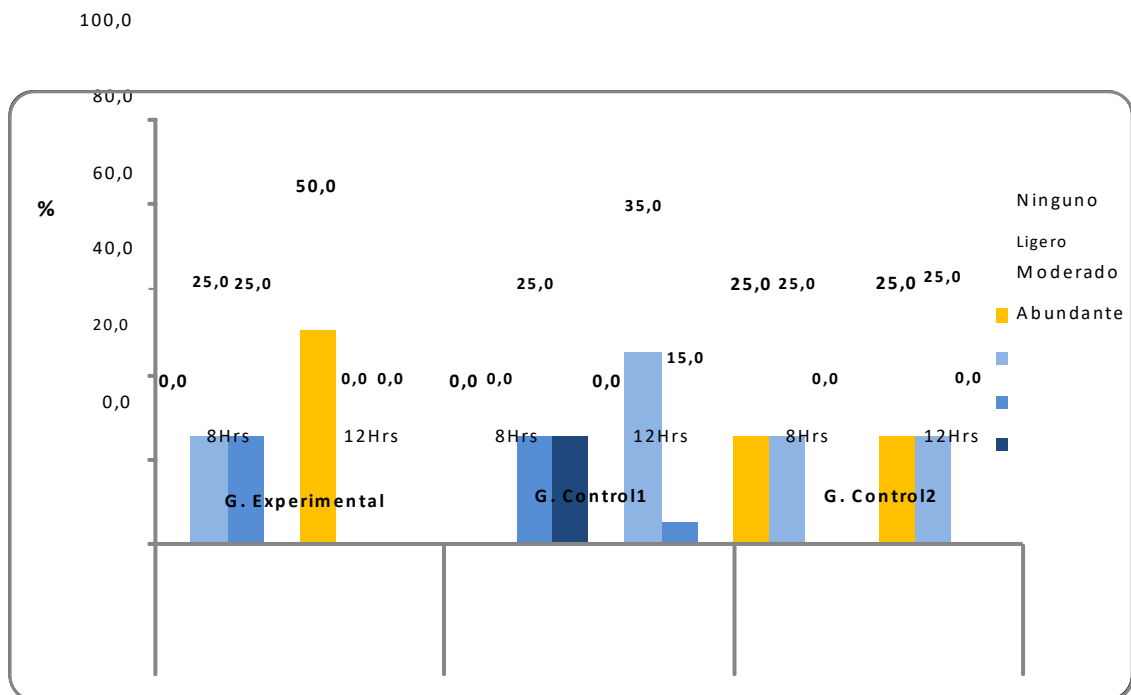


Gráfico N° 08. Porcentaje de ratones de laboratorio según cantidad de exudado de injurias cutáneas, grupos y tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

En cuanto a la cantidad de exudado de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio, encontramos que en el grupo experimental el 25,0% (5 ratones) tuvieron exudado ligero y moderado con 8 horas de tratamiento y el 50,0% (10 ratones) no presentaron exudado con 12 horas de tratamiento. Por otro lado, en el grupo control 1 el 25,0% (5 ratones) tuvieron exudado moderado y abundante con 8 horas de tratamiento y el 35,0% (7 ratones) presentaron exudado ligero con 12 horas de tratamiento. En el grupo control 2 el 25,0% (5 ratones) tuvieron exudado ligero y a la vez no presentaron con 8 horas de tratamiento y también el 25,0% (5 ratones) presentaron exudado ligero y a la vez de ninguno con 12 horas de tratamiento.

4.1. ANALISIS INFERENCIAL DE LOS RESULTADOS

4.2.1. ANALISIS BIVARIADO:

Tabla N° 09. Prueba T Student en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio del Grupo Experimental según tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de tratamiento	Total	Promedio	Desviación estándar	Prueba T Student (Valor)	Significancia (P)
Cada 8 horas	10	15,8	0,30	12,06	0,000
Cada 12 horas	10	13,3	0,50		

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

Respecto a la comparación del tiempo promedio de cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio del Grupo Experimental, aquellos con cada 8 horas de tratamiento el tiempo promedio fue de 15,8 días y con cada 12 horas de tratamiento de 13,3 días; fue evidente que los ratones con cada 12 horas de tratamiento mostró menor tiempo de cicatrización que los del grupo con cada 8 horas de tratamiento. Para comprobar si estos valores son significativos, se utilizó la Prueba T de Student alcanzando el valor de $t = 12,06$; $p \leq 0,000$, existiendo diferencias significativas estadísticamente en el tiempo promedio de cicatrización, o lo que es equivalente, que la aplicación de cada 12 horas del aceite de copaiba extraído en laboratorio tiene efecto en el tiempo menor de cicatrización de injurias cutáneas provocadas, respecto al grupo con cada 8 horas de tratamiento.

Tabla N° 10. Prueba T Student en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio del Grupo Control 1 según tiempo de tratamiento Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de tratamiento	Total	Promedio	Desviación estándar	Prueba T Student (Valor)	Significancia (P)
Cada 8 horas	10	16,4	0,42	1,32	0,196
Cada 12 horas	10	16,2	0,38		

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

Respecto a la comparación del tiempo promedio de cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio del Grupo Control 1, aquellos con cada 8 horas de tratamiento el tiempo promedio fue de 16,4 días y con cada 12 horas de tratamiento de 16,2 días; fue evidente que los ratones con cada 12 horas de tratamiento mostró similar tiempo de cicatrización que los del grupo con cada 8 horas de tratamiento. Para comprobar si estos valores son significativos, se utilizó la Prueba T de Student alcanzando el valor de $t = 1,32$; $p \leq 0,196$, no existiendo diferencias significativas estadísticamente en el tiempo promedio de cicatrización, o lo que es equivalente, que la aplicación de cada 12 horas del aceite de copaiba comercial tiene efecto similar de cicatrización de injurias cutáneas provocadas, respecto al grupo con cada 8 horas de tratamiento.

Tabla N° 11. Prueba T Student en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio del Grupo Control 2 según tiempo de tratamiento. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Tiempo de tratamiento	Total	Promedio	Desviación estándar	Prueba T Student (Valor)	Significancia (P)
Cada 8 horas	10	15,6	1,30	-0,17	0,744
Cada 12 horas	10	15,8	0,80		

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

En lo que respecta a la comparación del tiempo promedio de cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio del Grupo Control 2, aquellos con cada 8 horas de tratamiento el tiempo promedio fue de 15,6 días y con cada 12 horas de tratamiento de 15,8 días; fue evidente que los ratones con cada 12 horas de tratamiento mostró similar tiempo de cicatrización que los del grupo con cada 8 horas de tratamiento. Para comprobar si estos valores son significativos, se utilizó la Prueba T de Student alcanzando el valor de $t = -0,17$; $p \leq 0,744$, no existiendo diferencias significativas estadísticamente en el tiempo promedio de cicatrización, o lo que es equivalente, que la aplicación de cada 12 horas del producto farmacéutico hipoglós tiene efecto similar de cicatrización de injurias cutáneas provocadas, respecto al grupo con cada 8 horas de tratamiento.

4.2.2. ANALISIS MULTIVARIADO:

Tabla N° 12. Análisis descriptivo en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 8 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Grupos	Total	Promedio	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Grupo Experimental	10	15,8	0,30	15	16
Grupo Control1	10	16,4	0,50	15	17
Grupo Control2	10	15,6	1,30	13	18
Total	30	15,9	0,80	13	18

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

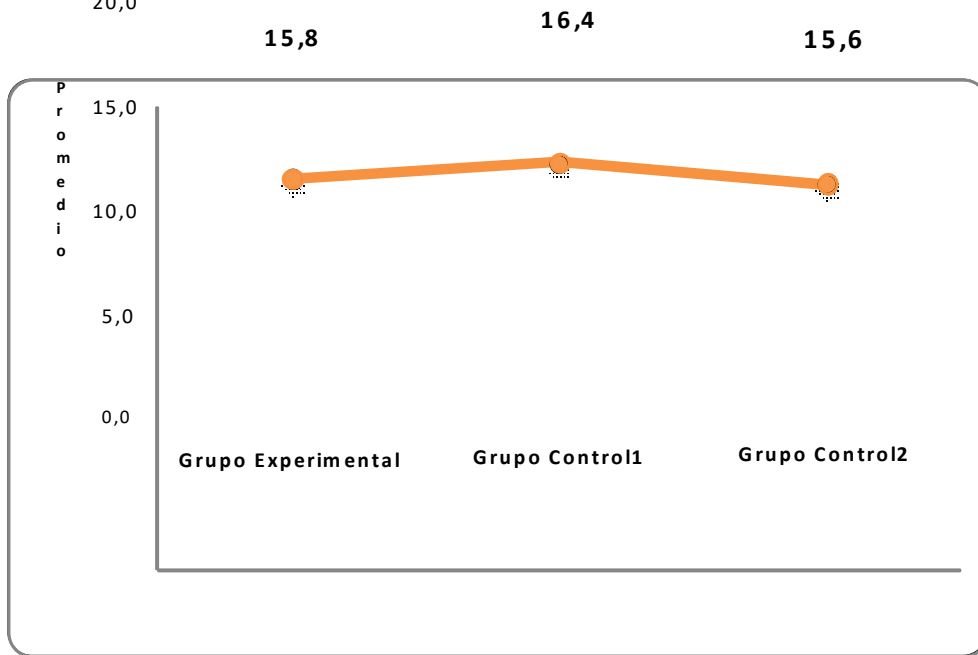


Gráfico N° 09. Tiempo promedio de la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 8 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Una vez comprobada las diferencias de medias entre los tiempos de tratamiento por cada grupo de estudio, revisaremos los estadísticos descriptivos por grupos y los contrastes estadísticos a posteriori. En cuanto al análisis descriptivo en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio con tratamiento de cada 8 horas, observamos que los tres grupos mantienen similar promedio del tiempo de cicatrización siendo de 15,8 días para el grupo experimental, 16,4 días para el grupo control 1 y 15,6 días para el grupo control 2.

Tabla N° 13. Análisis de Varianza en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 8 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Significancia
Inter-grupos	4,45	2	2,23	3,10	0,065
Intra-grupos	19,30	27	0,72		
Total	23,75	29			

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

En relación al análisis de varianza (ANOVA) en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio (grupo experimental, control 1 y control 2) y con tratamiento de cada 8 horas, encontramos que el valor $F = 3,11$ $p \leq 0,065$; obtuvo una probabilidad mayor del nivel de significancia del 5,0%; evidenciando que no existe diferencia entre las medias de cicatrización de injurias cutáneas provocadas de los tres grupos con tratamiento de cada 8 horas.

Tabla N° 14. Prueba de diferencia de medias a posteriori de Tukey en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 8 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Grupos de estudio		Diferencia de medias	Error típico	Significancia
Grupo Experimental	Grupo Control1	-0,6	0,4	0,172
	Grupo Control2	0,2	0,4	0,850
Grupo Control1	Grupo Experimental	0,6	0,4	0,174
	Grupo Control2	0,8	0,4	0,063
Grupo Control2	Grupo Experimental	-0,2	0,4	0,859
	Grupo Control1	-0,8	0,4	0,063

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

Concerniente a la prueba de diferencia de medias a posteriori de Tukey en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento de cada 8 horas, observamos que no existió diferencia significativa estadísticamente entre el grupo experimental y el grupo control 1 ($P \leq 0,174$) y grupo control 2 ($P \leq 0,859$). La diferencia de medias fue de -0,6 y 0,2; respectivamente. Y, no existió diferencia significativa entre el grupo control 1 y el grupo control 2 ($P \leq 0,063$). La diferencia fue de 0,8.

Tabla N° 15. Prueba de subconjuntos homogéneos de Tukey en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 8 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Grupos de estudio	Total	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Grupo Experimental	10	15,8
Grupo Control1	10	16,4
Grupo Control2	10	15,6
Significancia		0,060

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

Desde otro punto de vista, la prueba de subconjuntos homogéneos de Tukey en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento de cada 8 horas; encontramos un solo subconjunto de grupos mostrándose las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos donde en el grupo experimental fue de 15,8 días; en el grupo control 1 de 16,4 días y en el grupo control 2 de 15,6 días.

Tabla N° 16. Análisis descriptivo en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 12 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Grupos	Total	Promedio	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Grupo Experimental	10	13,3	0,50	13	14
Grupo Control1	10	16,2	0,46	16	17
Grupo Control2	10	15,8	0,92	13	18
Total	30	15,1	1,40	13	18

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

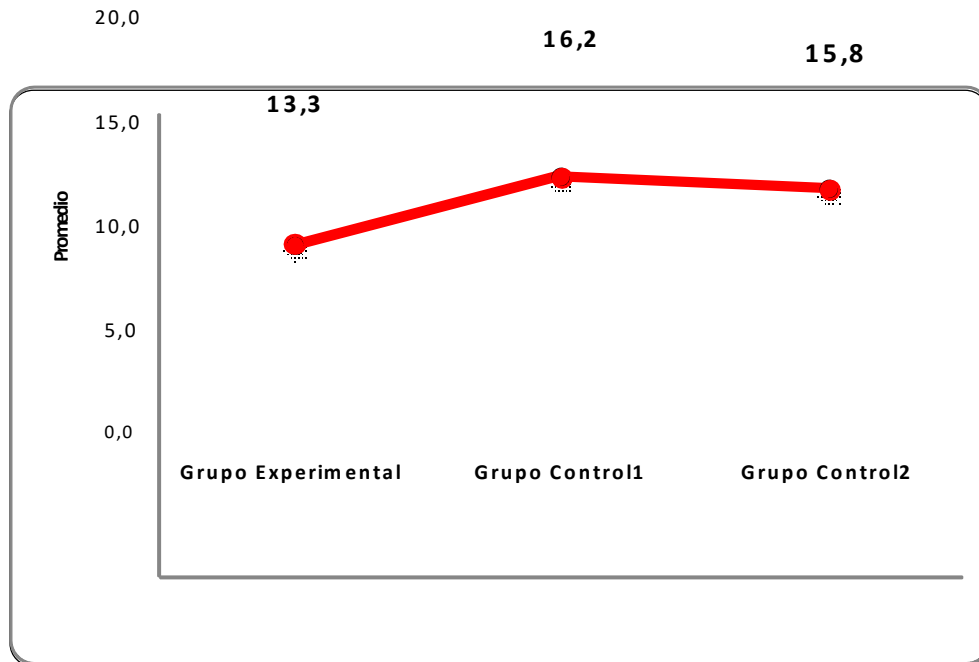


Gráfico N° 10. Tiempo promedio de la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 12 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

En cuanto al análisis descriptivo en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio con tratamiento de cada 12 horas, observamos que en el grupo experimental un promedio del tiempo de cicatrización de 13,3 días y los otros dos grupos mantienen un promedio de 16,2 días para el grupo control 1 y 15,8 días para el grupo control 2.

Tabla N° 17 Análisis de Varianza en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 12 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Significancia
Inter-grupos	47,07	2	24,03	52,60	0,000
Intra-grupos	11,10	27	0,45		
Total	58,17	29			

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

Respecto al análisis de varianza (ANOVA) en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio (grupo experimental, control 1 y control 2) y con tratamiento de cada 12 horas, encontramos que el valor F; $F(2,27) = 52,60$ $p \leq 0,000$; obtuvo una probabilidad menor del nivel de significancia del 5,0%; evidenciando que existe diferencias significativas entre las medias de cicatrización de injurias cutáneas provocadas de los tres grupos con tratamiento de cada 12 horas.

Tabla N° 18. Prueba de diferencia de medias a posteriori de Tukey en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 12 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Grupos de estudio		Diferencia de medias	Error típico	Significancia
Grupo Experimental	Grupo Control1	-2,9	0,30	0,000
	Grupo Control2	-2,5	0,30	0,000
Grupo Control1	Grupo Experimental	2,9	0,30	0,000
	Grupo Control2	0,4	0,30	0,235
Grupo Control2	Grupo Experimental	2,5	0,30	0,000
	Grupo Control1	-0,4	0,30	0,235

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

Concerniente a la prueba de diferencia de medias a posteriori de Tukey en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento de cada 12 horas, observamos que existió diferencia significativa estadísticamente entre el grupo experimental y el grupo control 1 ($P \leq 0,000$) y grupo control 2 ($P \leq 0,000$). La diferencia de medias fue de -2,9 y -2,5; respectivamente. Y, no existió diferencia significativa entre el grupo control 1 y el grupo control 2 ($P \leq 0,235$). La diferencia fue de 0,4.

Tabla N° 19. Prueba de subconjuntos homogéneos de Tukey en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento cada 12 horas. Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco 2015

Grupos de estudio	Total	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Grupo Experimental	10	13,3	
Grupo Control1	10		16,2
Grupo Control2	10		15,8
Significancia		1,000	0,235

Fuente: Guía de Observación (ANEXO 01).

Y, desde otro punto de vista, la prueba de subconjuntos homogéneos de Tukey en la cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio según grupos de estudio y tiempo de tratamiento de cada 12 horas; resultaron dos subconjuntos de grupos, uno compuesto por los grupos control 1 y control 2 y otro subconjunto en el que sólo estuvo el grupo experimental; y mostrándose las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos donde en el grupo experimental fue de 13,3 días; en el grupo control 1 de 16,2 días y en el grupo control 2 de 15,8 días.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

5.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La importancia del uso de las plantas medicinales en la medicina tradicional ha sido reconocida por la Organización Panamericana de la Salud refiriéndose a muchos países en vías de desarrollo, instando a los estados y miembros a hacer estudios (preclínicos y clínicos) de las plantas medicinales utilizadas por los curanderos tradicionales y la población, para determinar aquellos que tengan una relación eficacia-efecto satisfactorio, de manera de incluirlas en la farmacopea nacional ⁽³⁰⁾.

Entre estas plantas medicinales encontramos el aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) ⁽³¹⁾.

En nuestra investigación se comprobó que el tratamiento con aceite de copaiba extraído en el laboratorio disminuyó el tiempo promedio de cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio en el tratamiento de cada 12 horas frente a cada 8 horas (13,3/15,8 días), existiendo diferencias significativas estadísticamente ($t = 12,06$; $p \leq 0,000$).

A pesar de que el estudio no evidencia muchos antecedentes, sin embargo se encontraron los siguientes, como por ejemplo, de acuerdo con el estudio de Arroyo J, Almora Y, Quino M, Martínez J, Condorhuamán M, Flores M, Bonilla P. ⁽³²⁾ los ensayos fitoquímicos realizados al aceite de copaiba, se identificó la presencia de terpenos, sin descartar la posibilidad que en su composición contenga mayor cantidad de triterpenos; dentro de estos, el β -cariofileno se

encuentra en mayor cantidad, seguido de α -humuleno, α -copaeno, α bergamoteno, δ -cadineno.

Del mismo modo, Tincusi BM. ⁽³³⁾ Menciona que las propiedades farmacológicas del ácido kaurénico presente en el aceite de copaiba, según sus estudios, es un compuesto diterpenoide que posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis*, con un MIC de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. También, se ha mostrado efecto antimicrobiano significativo (MIC<10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) contra bacterias y estimulan la secreción gástrica por lo que son digestivos y estomáquicos.

Según investigación realizada por Guba R, en 2008, los aceites esenciales no demostraron ser tóxico–carcinógenos en los animales de experimentación utilizados ⁽¹⁶⁾. Finalmente, nuestros resultados indican que el tratamiento con aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) extraído en laboratorio disminuyó el tiempo promedio de cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio en el tratamiento de cada 12 horas frente a cada 8 horas (13,3/15,8 días)

CONCLUSIONES

En el presente trabajo de investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- El aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) extraído en laboratorio disminuyó el tiempo promedio de cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio en el tratamiento de cada 12 horas frente a cada 8 horas (13,3/15,8 días), existiendo diferencias significativas estadísticamente ($t = 12,06$; $p \leq 0,000$).
- El aceite de copaiba comercial no disminuyó el tiempo promedio de cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio en el tratamiento de cada 12 horas frente a cada 8 horas (16,2/16,4 días), no existiendo diferencias significativas estadísticamente ($t = 1,32$; $p \leq 0,196$).
- Asimismo, el producto farmacéutico hipoglós no disminuyó el tiempo promedio de cicatrización de injurias cutáneas provocadas en ratones de laboratorio en el tratamiento de cada 12 horas frente a cada 8 horas (15,8/15,6), no existiendo diferencias significativas estadísticamente ($t = -0,17$; $p \leq 0,744$).
- Por otro lado, no existió diferencia significativa estadísticamente entre el grupo experimental y el grupo control 1 ($P \leq 0,172$) y grupo control 2 ($P \leq 0,850$) en el tiempo de tratamiento de cada 8 horas.
- Y, existió diferencia significativa estadísticamente entre el grupo experimental y el grupo control 1 ($P \leq 0,000$) y grupo control 2 ($P \leq 0,000$) en el tiempo de tratamiento de cada 12 horas.

RECOMENDACIONES

Considerar las siguientes recomendaciones:

- Se debe realizar estudios sobre los principios activos del aceite de copaiba (**Copaifera officinalis**), profundizando el estudio fito-químico para aislar y realizar la elucidación de estructuras químicas responsables del efecto antiinflamatorio de la gastritis.
- Realizar un estudio de estabilidad a largo plazo, obteniendo de esta manera datos para la estimación del tiempo de vida útil del producto final.
- Realizar más investigaciones con el aceite de copaiba (**Copaifera officinalis**) ya que poseen varias propiedades, y existe escasa información sobre dicha planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sanchez R, Barone B, Teves DC, Simões MJ, Novo NF, Juliano Y. (2003) Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução papaína a 2%. Acta Cir. Bras., v.8, n.1, p. 18-23.
2. Veiga Junior V. et al, "Constituintes das sementes de *Copaifera officinalis*", Revista Acta Amazónica, 2007, 37(1):123-126.
3. Veiga VF, Zunino L, Calixto JB, Patitucci ML, Pinto AC. Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial Copaiba oils available in Brazil. Phytotherapy Research. 2001;15:476–80.
4. Basile AC, Sertie JA, Freitas PCD, Zanini AC. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian Copaiba. J Ethnopharmacol. 1998;22:101–9.
5. Lacey LA, Schreck CE, McGovern TP. Native and experimental repellent against black flies in the Amazon basin of Brazil. Mos News. 1981;41:376–9.
6. Del Nunzio MJ. Copaiba oils and its uses in cosmetics. Aerosol Cosmetology. 1985;7:7.
7. Gilbert B, Mors WB, Baker PM, Tomassini TCB, Goulart EG, Holanda JC, et al. A atividade antihelmíntica de óleos essenciais e de seus componentes químicos. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 1972;44:423–8.
8. SILVA, F.H. et al. Estudo do óleo essencial e extrato hidrometanólico de *Copaifera langsdorffii* Desf (*Caesalpinaceae*) do cerrado e mata atlântica. In: Reunião Nacional da Sociedade Brasileira de Química, 29., 2006. Águas de Lindóia. Anais eletrônicos. São Paulo: Instituto de Química da USP, 2006.
9. Clark R. Biología de la reparación de heridas dérmicas. Clínicas Dermatológicas. Ed. Interamericana, Madrid, 2003; 11: 673-689.
10. González R. Modelos experimentales para la evaluación de la acción cicatrizante de medicamentos. Rev Cubana de Farm 2002;36(3):189-96.
11. Fauchen N, Meaume S, Salvatore R, Senet P. Nutritional status and infections, factor of the delay of cicatrisation. Soins 2000;(642 Suppl):5-8.
12. Eichler MJ y Carlson MA. Modeling dermal granulation tissue with the linear fibroblast-populated collagen matrix: A comparison with the round matrix model. Journal of Dermatological Science, 2005, 41(2): 97-108.
13. Achauer B, Eriksson E. Plastic Surgery: indications, operations and outcomes, 2000.
14. Cutting K, Harding K. Criterious for identifying wound infection. J Wound Care 2004; 3(4): 198-201.

15. Osmoz C. (*Copaifera officinalis*). Disponible en: <http://www.osmoz.com/Encyclopedia/Raw-materials/Balsamic/Copahu-Balm-Copaifera-Officinalis>. Obtenido el 28 de junio de 2009.
16. Guba R. Toxicity Myths—essential oils and their carcinogenic potencial. Center for Aromatic Medicine. Australia 2008.
17. Arroyo A, Jorge et al. Efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba), en pacientes con úlcera péptica. *An. Fac. med.* [online]. 2011, vol.72, n.2 [citado 2014-11-03], pp. 113-117.
18. Francia Francia, José L. Actividad antimicrobiana *-in vitro-* del aceite de Copaiba frente a bacterias patógenas, Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión -Facultad de Medicina. [Tesis magistral]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
19. García arroyo, Raúl L. Efecto antimicrobiano de la Óleo-resina de *Copaifera officinalis* sobre principales cepas bacterianas periodontópatógenas de la cavidad bucal. Facultad de Odontología. [Tesis magistral]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
20. Bartkova J, Gron B, Dabelsteen E, and Bartek J. Cell-cycle regulatory proteins in human wound healing. *Archives of Oral Biology*, 48(2):125-132. 2003.
21. Eichler MJ and Carlson MA. Modeling dermal granulation tissue with the linear fibroblast-populated collagen matrix: A comparison with the round matrix model. *Journal of Dermatological Science*, 41(2): 97-108. 2005.
22. Greenhalgh DG . The role of apoptosis in wound healing. *The international Journal of Biochemistry & Cell Biology* 30(9):1019-1030.1998.
23. Martin P and Leibovich . Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in cell Biology* 15(11):599-607.2005.
24. Midwood KS, Williams LV, and Schwarzbauer JE . Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36(6):1031-1037.2004.
25. Santero MM & Gaudino G . Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. *Experimental Cell Research* 304(1): 274-286.2005.
26. Son HJ Bae HC, Kim HJ, Lee DH, Han DW, and Park JC . Effects of β -glucan on proliferation and migration of fibroblasts. *Current Applied Physics*, 5(5):468-471.2005
27. Santos, A.O. *Effect of Brazilian copaiba oils on Leishmania amazonensis*, Journal of Ethnopharmacology.: 120, 204-208 (2008).

- 28.** Fauchen N, Meaume S, Salvatore R, Senet P. Nutritional status and infections, factor of the delay of cicatrisation. *Soins* 2000 ;(642 Suppl):5-8.
- 29.** Osmoz C. (*Copaifera officinalis*). Disponible en: <http://www.osmoz.com/Encyclopedia/Raw-materials/Balsamic/Copahu-Balm-Copaifera-Officinalis>. Obtenido el 28 de junio de 2009.
- 30.** Organizacion Panamerica de Salud. Situación de la Medicina Tradicional en América. Bolivia. 1998.
- 31.** Lacey LA, Schreck CE, McGovern TP. Native and experimental repellent against black flies in the Amazon basin of Brazil. *Mos News*. 1981;41:376–9.
- 32.** Arroyo J, Almora Y, Quino M, Martínez J, Condorhuamán M, Flores M, Bonilla P. Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. *An Fac med*. 2009; 70 (2):89-96.
- 33.** Tincusi BM, Jimenez IA, Bazzocchi IL, Moujir LM, Mamani ZA, Barroso JP, et al. Antimicrobial terpenoids from the oleoresin of the Peruvian medicinal plant *Copaifera paupera*. *Planta Médica*. 2002; 68: 808–12.

ANEXOS

ANEXO N° 01

UNIVERSIDAD “HERMILIO VALDIZÁN” DE HUÁNUCO
ESCUELA DE POST GRADO

GUÍA DE OBSERVACIÓN

TITULO DE LA INVESTIGACIÓN: EFECTO DEL ACEITE DE COPAIBA (*Copaifera officinalis*) EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS CUTÁNEAS PROVOCADAS EN RATONES DE LABORATORIO.

INSTRUCCIONES. A continuación usted encontrará algunas preguntas generales y relacionadas con la cicatrización de lesiones cutáneas provocadas en ratones de laboratorio. Por favor, responda todas las preguntas de acuerdo a su juicio, para ello marque con una (X), como también complete en aquellos espacios que encuentre.

Muchas gracias.

I. Datos generales:

Fecha:.....

Sexo:

Macho ()

Hembra ()

Peso:

..... en g.

Aplicación de *Copaifera officinalis*:

SI ()

NO ()

Tratamiento:

Cada 8 horas () Cada 12 horas ()

II. Observación de la herida cutánea provocada:

EXUDADO:

DÍA	Exudado				OBSERVACIONES
	Ninguno	Ligero	Moderado	Abundante	
1º					
2º					
3º					
4º					
5º					
6º					
7º					
8º					
9º					
10º					
11º					

TIPO DE TEJIDO:

DÍA	Tipo de Tejido					OBSERVACIONES
	Cicatrizado	Tejido Epitelial	Tejido de Granulación	Esfacelos	Tejido Necrótico	
1º						
2º						
3º						
4º						
5º						
6º						
7º						
8º						
9º						
10º						
11º						

ANEXO 02

FOTOGRAFÍAS DE LA DISTRIBUCIÓN Y ALIMENTACIÓN DE LOS RATONES DE LABORATORIO EN LOS RESPECTIVOS GRUPOS



Foto N°01. Distribución de los ratones de laboratorio en los grupos controles y el grupo experimental.



Foto N°02. Alimentación de los ratones de laboratorio.



Foto N°03. Los ratones de laboratorio fueron alimentados con alimento balanceado y agua.

ANEXO 03
PROCESO DE DESTILACIÓN DEL ACEITE DE COPAIBA (*Copaifera officinalis*)
EN EL LABORATORIO



Foto N°04. Semilla de Copaiba (*Copaiferaofficinalis*)



Foto N°05. Destilación Simple, cuyo fundamento es la separación del disolvente orgánico y el aceite esencial de *Copaifera officinalis*



Foto N°06 Producto Final: Aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*)

ANEXO 04

**FOTOGRAFIAS DE LAS HERIDAS PROVOCADAS EN LOS RATONES DE
LABORATORIO**



Foto N°07. Depilación del lomo de los ratones de laboratorio



Foto N°08. Se realiza un corte longitudinal en el lomo del animal hasta observar el sangrado



Foto N°09. Se realiza el tratamiento topical con el aceite de copaiba.

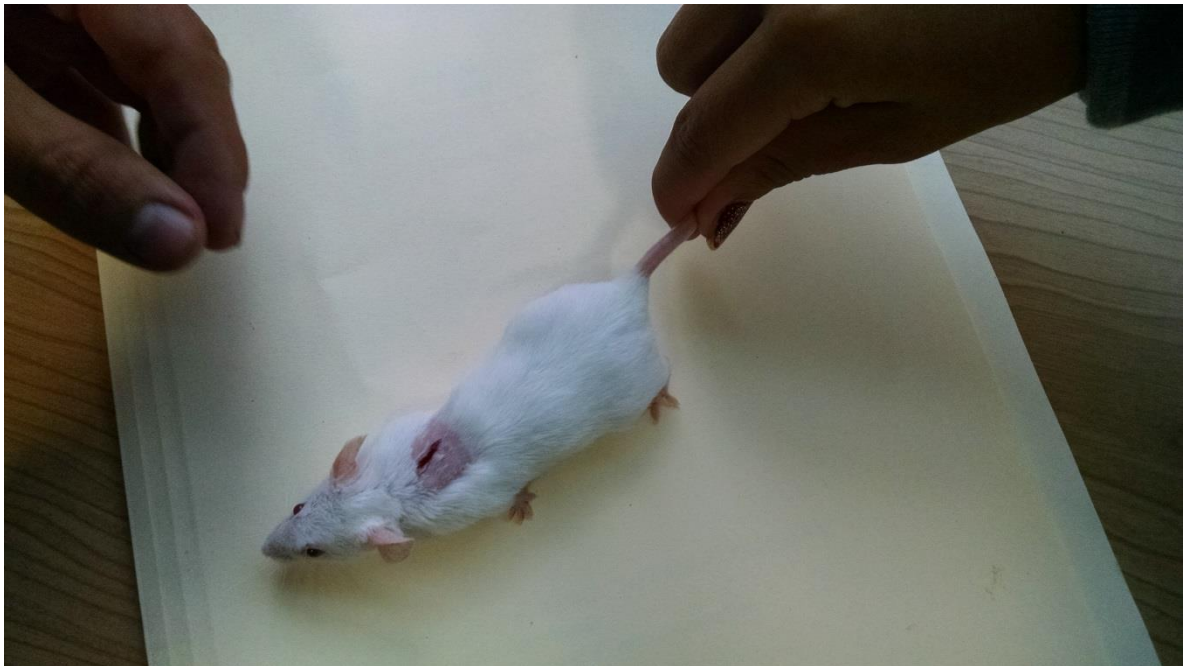
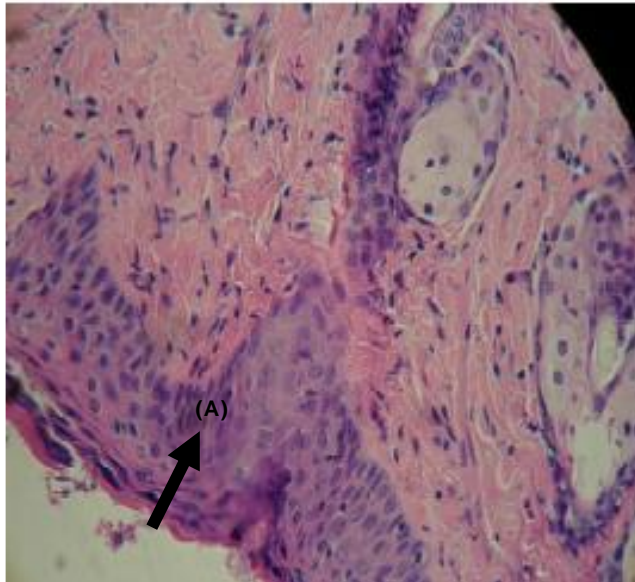


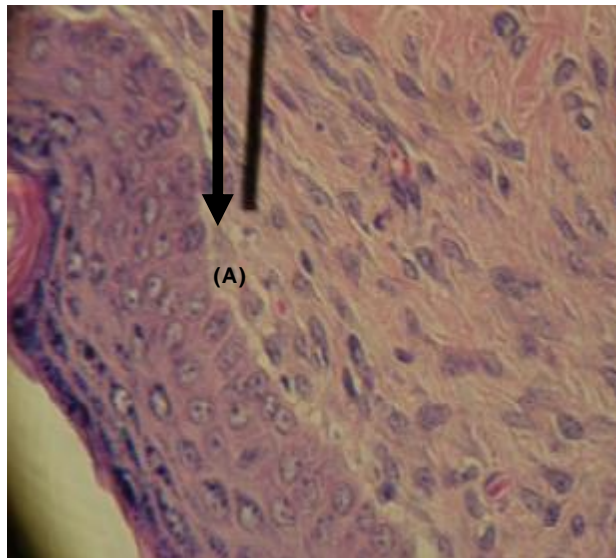
Foto N°10. Obsérvese la cicatrización de la herida.

ANEXO 05

MICROFOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE LA PIEL DE RATÓN



Microfotografía 01. Piel del lomo de ratón de ratón. (A) Cicatrización completa con evolución del estrato corneal de la piel, lo que indica la presencia de una cicatriz. (160X)



Microfotografía 02. Piel de lomo de ratón. (A) Observe la presencia de queratina a nivel del estrato espinoso de la piel (160X)