

UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZONICA DE MADRE DE DIOS  
FACULTAD DE INGENIERIA

ESCUELA PROFESIONAL DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TESIS

“Comparación del efecto cicatrizante de *Copaifera paupera* (Hersog)  
Dwyer (Aceite de Copaiba), *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de  
Grado) y Kil AG en heridas inducidas en el lomo de ratones de  
laboratorio, en Puerto Maldonado – Perú”

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE MEDICO VETERINARIO -  
ZOOTECNISTA

**AUTOR:**

Bach. HUAMAN SUAREZ, Rolfi Yuber

**ASESOR:**

MVZ. M.Sc. GARCIA NUÑEZ, Ricardo Ysaac

**CO-ASESOR:**

MVZ. ARAPA SALAS, Luis Alberto

Puerto Maldonado, diciembre de 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZONICA DE MADRE DE DIOS  
FACULTAD DE INGENIERIA

ESCUELA PROFESIONAL DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TESIS

“Comparación del efecto cicatrizante de *Copaifera paupera* (Herzog)  
Dwyer (Aceite de Copaiba), *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de  
Grado) y Kil AG en heridas inducidas en el lomo de ratones de  
laboratorio, en Puerto Maldonado - Perú”

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE MEDICO VETERINARIO -  
ZOOTECNISTA

**AUTOR**

Bach. HUAMAN SUAREZ, Rolfi Yuber

**ASESOR:**

MVZ. M.Sc. GARCIA NUÑEZ, Ricardo Ysaac

**CO-ASESOR:**

MVZ. ARAPA SALAS, Luis Alberto

Puerto Maldonado, diciembre de 2019

## DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado el milagro de la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento. A mis padres, Edgar Huaman Lastero y Pura Suarez Castro, por ser los pilares más importantes y por demostrarme su cariño y apoyo incondicional. A mis queridos hermanos Yordy Julio y Hugo lber por su apoyo durante mi formación profesional.

## AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por todas sus bendiciones y por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad, y darme la oportunidad de llegar a mi vida profesional.

Gracias a mis padres Edgar y Pura, por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mí, por los consejos, valores y principios inculcados.

Agradezco a los docentes de la escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de mi formación profesional.

A mi Maestro MVZ. Ricardo García Núñez asesor del presente trabajo de investigación, agradezco por la orientación, su paciencia y su rectitud como docente, por su apoyo en la supervisión y elaboración del presente trabajo de investigación. Como también al MVZ Miguel García Toro, por su colaboración y su amistad. Al MVZ. Luis Alberto Arapa Salas por su apoyo en este trabajo de investigación.

A los doctores del área de histología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, MVZ. Belinda Mamani Mamani, MVZ. Ivan Quiñones Garcia, MVZ. Siriaco Teodoro Zuñiga Zuñiga y Dr. Luis Olivera Morocho, quienes me brindaron su apoyo para el análisis histológico de este trabajo de investigación.

A mi compañera de la universidad Yenifer Lima quien me apoyo en la ejecución de este trabajo de investigación, a Rui, Segundino, Bacilio, Clinton, Darwin y demás compañeros con quienes compartí muchos momentos en la universidad durante mi formación profesional. Como también a Susi, Roberto y Javier amigos y compañeros de trabajo por su apoyo que me dieron.

## RESUMEN

El objetivo del presente de estudio fue evaluar el efecto cicatrizante de: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado), frente a Kil AG en lesiones de piel en ratones albinos *Mus musculus*; se realizó en la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios en el laboratorio de experimentación de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria - Zootecnia. *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) fueron recolectados de sus propios árboles en la provincia de Tambopata departamento de Madre de Dios. Se necesitó 60 ratones *Mus musculus Balb C* con peso promedio de 29.78 gr. En los que se empleó el método de tensiómetro descrito por Howes et al., (1929) (37). Los ratones fueron aclimatados y distribuidos al azar en 5 grupos (Sangre de Grado, Aceite de Copaiba, Kil AG, testigo y piel intacta) de 12 ratones. El grupo de ratones de piel intacta no se le realizó ninguna incisión ni se aplicó ningún tratamiento. Se depilo la mitad inferior del lomo de los ratones albinos, se realizó las incisiones de 1 cm de longitud con un bisturí y se aplicó los respectivos tratamientos cada 12 horas. Al décimo día los ratones fueron sacrificados por una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, de cada grupo a 6 ratones se midió la fuerza de tensión de la piel con un dinamómetro para determinar el porcentaje de cicatrización de las heridas obteniéndose resultados en un 95% de confianza en la prueba estadística ANOVA y prueba de tukey. Comparando los resultados se obtuvo un mayor efecto cicatrizante con *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba). El tratamiento *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) y Kil AG no presentaron diferencias significativas entre ellas. Con los otros 6 ratones de cada grupo se realizó la evaluación Histológica del tejido cicatrizado para corroborar los resultados del método tensiómetro.

**Palabras claves:** Aceite de Copaiba, Sangre de Grado, Kil AG, cicatrización, piel.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the healing effect of: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) and *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado), against Kil AG in skin lesions in *Mus musculus* albino mice; It was carried out at the Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios in the experimentation laboratory of the Professional School of Veterinary Medicine - Zootechnics. *Copaifera Paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) and *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) were collected from their own trees in the province of Tambopata department of Madre de Dios. It took 60 *Mus musculus Balb C* mice with an average weight of 29.78 gr. In which the tensiometer method described by Howes et al., (1929) (37) was used. The mice were acclimatized and distributed randomly in 5 groups (Sangre de Grado, Aceite de Copaiba, Kil AG, control and intact skin) of 12 mice. The group of intact skin mice had no incision and no treatment was applied. The lower half of the back of the albino mice were shaved, the 1 cm long incisions were made with a scalpel and the respective treatments were applied every 12 hours. On the tenth day the mice were sacrificed by an overdose of sodium pentobarbital intraperitoneally, from each group, 6 mice measured the tensile strength of the skin with a dynamometer to determine the percentage of wound healing resulting in 95% results of confidence in the ANOVA statistical test and tukey test. Comparing the results, a greater healing effect was obtained with *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba Oil). The *Croton lechleri* Müell treatment. Arg. (Sangre de Grado) and Kil AG did not show significant differences between them. With the other 6 mice in each group, the Histological evaluation of the scar tissue was performed to corroborate the results of the tensiometer method.

**Keywords:** Aceite de Copaiba, Sangre de Grado, Kil AG, healing, skin.

## INDICE GENERAL

<b>CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento del problema de investigación .....	1
1.2. Formulación del problema.....	1
1.3. Justificación e Importancia .....	2
1.4. Objetivos de investigación .....	2
1.4.1. Objetivo General.....	2
1.4.2. Objetivos específicos.....	3
1.5. Hipótesis .....	3
1.5.1. Hipótesis general.....	3
1.5.2. Hipótesis específicas .....	3
1.6. Variables de investigación.....	3
1.6.1. Identificación de variables e indicadores .....	3
1.6.2. Operacionalización de variables .....	4
1.7. Consideraciones éticas.....	5
<b>CAPITULO II: MARCO TEORICO.....</b>	<b>6</b>
2.1. Antecedentes de la investigación .....	6
2.2. Marco teórico.....	7
2.2.1. Fitoterapia .....	7
2.2.2. <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) .....	8
2.2.3. <i>Croton lechleri</i> Müell. Arg. (Sangre de Grado) .....	11
2.2.4. Kil AG .....	12
2.2.5. Piel.....	13
2.2.6. Herida.....	18
2.2.7. Cicatrización .....	19
2.2.8. Experimentación animal.....	23
2.2.9. El Ratón <i>Mus musculus</i> .....	24
2.3. Marco conceptual .....	25
<b>CAPITULO III: METODOLOGIA DE INVESTIGACION.....</b>	<b>26</b>
3.1. Tipo de investigación.....	26
3.2. Diseño de la investigación.....	26
3.3. Delimitación espacial y temporal .....	27
3.3.1. Delimitación espacial.....	27

3.3.2. Delimitación Temporal.....	27
3.4. Población y muestra .....	27
3.4.1. Selección de animales de estudio .....	27
3.5. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos .....	28
3.5.1. Métodos y técnicas.....	28
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES DEL TRABAJO DE INVESTIGACION .....</b>	<b>35</b>
4.1. Procesamiento, análisis, interpretación y discusión de resultados. ....	35
4.1.1. porcentaje de cicatrización de las heridas con el método del tensiómetro en ratones albinos.....	35
4.1.2. Respuesta tisular de la piel a los tratamientos de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba), <i>Croton lechleri</i> Müell. Arg. (Sangre de Grado), Kil AG en ratones albinos y Testigo. ....	36
4.2. Prueba de Hipótesis .....	41
4.2.1. Hipótesis general .....	41
4.2.2. Hipótesis específicas .....	43
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>SUGERENCIAS .....</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>53</b>



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Operacionalización de Variables.....	4
<b>Tabla 2.</b> Distribución por tratamiento de ratones albinos Mus musculus.....	28
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje media de cicatrización. ....	35
<b>Tabla 4.</b> Estadísticos descriptivos del efecto cicatrizante. ....	41
<b>Tabla 5.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas para la cicatrización. ....	41
<b>Tabla 6.</b> ANOVA para porcentaje media de cicatrización de los tratamientos.....	42
<b>Tabla 7.</b> Comparaciones múltiples para el porcentaje de cicatrización - T de Dunnett (bilateral).....	42
<b>Tabla 8.</b> Descriptivo de los tratamientos Sangre de Grado, Aceite de Copaiba y Kil AG. ....	44
<b>Tabla 9.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas para la media porcentajes de cicatrización de los tratamientos Sangre de Grado, Aceite de Copaiba y Kil AG....	44
<b>Tabla 10.</b> ANOVA para la media porcentaje de cicatrización entre tratamiento Sangre de Grado, Aceite de Copaiba y Kil AG. ....	45
<b>Tabla 11.</b> Tabla de comparación múltiple de la media porcentaje de cicatrización - HSD Tukey <sup>a</sup> . ....	45
<b>Tabla 12.</b> Datos de pesos de ratones Mus musculus Balb c.....	58
<b>Tabla 13.</b> Gramos necesarios para abrir la piel intacta. ....	59
<b>Tabla 14.</b> Datos de porcentajes de cicatrización.....	60

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Regiones donde el género <i>Copaifera</i> se encuentra (12). .....	8
<b>Figura 2.</b> Porcentaje media de cicatrización.....	36
<b>Figura 3.</b> Microfotografía de 40X coloración con hematoxilina y eosina. Tratamiento con Sangre de Grado. En la que se observa (E) epidermis y (D) dermis. ....	38
<b>Figura 4.</b> Microfotografía de 40X coloración con hematoxilina y eosina. Tratamiento con aceite de copaiba. En la que se observa (E) epidermis, (D) dermis y (F) fibroblastos. ....	39
<b>Figura 5.</b> Microfotografía de 40 X coloración hematoxilina y eosina. Tratamiento con Kil AG. En la que se observa (E) epidermis, (D) dermis y (F) fibroblastos.....	39
<b>Figura 6.</b> Microfotografía de 40X coloración hematoxilina y eosina. Tratamiento testigo. En la que se observa (E) epidermis, (D) dermis. ....	40
<b>Figura 7.</b> Microfotografía de 40X coloración hematoxilina y eosina. Tratamiento testigo. En la que se observa (E) epidermis y (D) dermis.....	40
<b>Figura 8.</b> Medias de porcentaje de cicatrización.....	43
<b>Figura 9.</b> Media de porcentaje de cicatrización entre el tratamiento Aceite de Copaiba, Sangre de Grado y Kil AG. ....	46
<b>Figura 10.</b> Aclimatización de los ratones <i>Mus musculus Balb C</i> . ....	63
<b>Figura 11.</b> Confort de las jaulas. ....	63
<b>Figura 12.</b> Pesaje de los ratones.....	64
<b>Figura 13.</b> Materiales para la incisión de piel.....	64
<b>Figura 14.</b> Afeitado de piel. ....	65
<b>Figura 15.</b> Corte de piel.....	65
<b>Figura 16.</b> Cicatrizantes. ....	66
<b>Figura 17.</b> Aplicación de Sangre de Grado.....	66
<b>Figura 18.</b> Aplicación de Aceite de Copaiba. ....	67
<b>Figura 19.</b> Aplicación de Kil AG.....	67
<b>Figura 20.</b> Eutanasia de los ratones.....	68
<b>Figura 21.</b> Método tensiómetro. ....	68
<b>Figura 22.</b> Toma de muestra de piel.....	69
<b>Figura 23.</b> Muestra de piel.....	69
<b>Figura 24.</b> Lavado de muestras.....	70
<b>Figura 25.</b> Deshidratación de muestras.....	70
<b>Figura 26.</b> Fijación en parafina.....	71
<b>Figura 27.</b> Taco de parafina. ....	71
<b>Figura 28.</b> Micrótopo. ....	72
<b>Figura 29.</b> extendido del corte.....	72
<b>Figura 30.</b> Coloración Hematoxilina y Eosina. ....	73
<b>Figura 31.</b> Montaje. ....	73

## INTRODUCCION

La amazonia peruana posee una gran diversidad de plantas medicinales que representa uno de los mayores recursos medicinales usados por etnias nativas y por pobladores que viven en zonas rurales (1). Muchas investigaciones en los últimos años han mostrado gran interés en los productos medicinales obtenidos de plantas, para su uso en medicina humana y veterinaria (2). En Madre de Dios es muy utilizado como remedio tradicional o ancestral el *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) utilizados por sus propiedades cicatrizantes en lesiones de piel. El presente trabajo de investigación tuvo el propósito de evaluar el efecto cicatrizante de productos naturales como es el *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) comparado con un cicatrizante comercial de uso veterinario en incisiones realizadas en ratones albinos. Por tal sentido, se destacan dos puntos. Por un lado, la obtención del *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) se realizó directamente de sus propios árboles. Por otro lado, la evaluación del efecto cicatrizante se realizó mediante el método del tensiómetro que fue corroborado con evaluaciones histológicas de las cicatrices de las pieles donde se realizaron incisiones. Se pudo apreciar una variedad de trabajos de investigación con referencia a los efectos cicatrizante del *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado), sin embargo, no los han realizado específicamente en la región de Madre de Dios. La importancia de evaluar y comparar el efecto cicatrizante de estos productos naturales es darle un valor farmacológico y comercial en el campo de la Medicina Veterinaria. Por ello el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de las propiedades de estos cicatrizantes naturales para la aplicación fitoterapéutica en la cicatrización de heridas.

## CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Planteamiento del problema de investigación

El conocimiento ancestral de las propiedades curativas de la flora amazónica peruana, con su introducción a la Medicina Veterinaria le dará un valor comercial y farmacológico. La cicatrización de heridas es uno de los principales problemas médicos en la práctica clínica de animales de compañía.

La complejidad de la fisiología que abarca la cicatrización, presenta 4 fases iniciando con la inflamación continuado con el desbridamiento siguiendo con la reparación y maduración. Cabe destacar que muchas de estas fases pueden ocurrir al mismo tiempo (3).

Diversas investigaciones desarrolladas han corroborado el uso medicinal ancestral, evidenciando el poder cicatrizante asignado a *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) (4) (5) (6) (7). La gran diversidad de las plantas medicinales de la selva peruana es poco estudiado o difundido en el campo de la Medicina Veterinaria.

Por lo tanto, es de importancia conocer y comparar el efecto cicatrizante de estos productos naturales comparados con un producto comercial de uso veterinario con el objeto de darle alternativa fitoterapéutica a problemas de cicatrización de heridas en animales de compañía, de esa manera revalorizar y fomentar el uso terapéutico de estos productos naturales.

### 1.2. Formulación del problema

¿Cuál será la eficacia cicatrizante entre *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) frente a Kil AG, en lesiones de piel en ratones albinos?

### 1.3. Justificación e Importancia

El uso de plantas medicinales es una práctica que demuestra la memoria ancestral de los pueblos amazónicos para curar diversas afecciones, el uso tradicional de *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) como cicatrizante de heridas es muy difundida en la amazonia peruana (1).

Determinar la eficacia del *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) frente a un cicatrizante de uso comercial veterinario es de trascendental importancia, debido al gran impacto que tiene su uso tradicional en la amazonia. El desarrollo de esta investigación es el punto de partida para entender la interacción de *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) con la respuesta tisular en el tejido cutáneo de estos animales.

A nivel teórico, esta investigación determinó la eficacia de *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de grado) como agente cicatrizante, proporcionando mayor conocimiento, datos e información a los médicos veterinarios, estudiantes sobre las propiedades terapéuticas de estos cicatrizantes naturales.

Con los resultados de esta investigación se pretende dar conocimiento de la aplicación de estos productos naturales como alternativa fitoterapéutica en la cicatrización de heridas.

### 1.4. Objetivos de investigación

#### 1.4.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto cicatrizante de: *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado), frente a Kil AG en lesiones de la piel en ratones albinos *Mus musculus*.

### 1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el porcentaje de cicatrización mediante el método del tensiómetro, de cicatrices de heridas de 1cm de longitud producidas en el lomo de ratones albinos *Mus musculus*.
- Evaluar la respuesta tisular en el tejido cutáneo de ratones albinos *Mus musculus*.

## 1.5. Hipótesis

### 1.5.1. Hipótesis general

H<sub>1</sub>

El efecto cicatrizante de *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) frente a Kil AG presenta diferencias en lesiones cutáneas de ratones albinos *Mus musculus*.

H<sub>0</sub>

El efecto cicatrizante de *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) frente a Kil AG no presenta diferencias en lesiones cutáneas de ratones albino *Mus musculus*.

### 1.5.2. Hipótesis específicas

H<sub>1</sub>

El porcentaje de cicatrización de cada tratamiento presentan diferencias significativas.

H<sub>0</sub>.

El porcentaje de cicatrización de cada tratamiento no presenta diferencias significativas.

## 1.6. Variables de investigación

### 1.6.1. Identificación de variables e indicadores

a) Variables independientes:

X<sub>1</sub> = *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer. (Aceite de Copaiba)

X<sub>2</sub> = *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado)

X3 = Kil AG

b) Variables dependientes:

Y1= Porcentaje cicatrización de incisiones

Y2= Reacción tisular.

### 1.6.2. Operacionalización de variables

**Tabla 1.**Operacionalización de Variables.

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
Independiente : (Tratamientos)	Se realizará la aplicación de los tratamientos mediante toques en las incisiones realizada en los ratones <i>Mus musculus</i> . Se Utilizará hisopos.	Aceite de Copaiba	Días	9
		Sangre de Grado	Días	9
		Kill AG	Días	9
Dependientes:  Y1=% cicatrización de incisiones	Es la medida de la fuerza de cicatrización que se realizará después de los 9 días de tratamiento. Se utilizará un dinamómetro.	Cicatrización	Gramos newton	Intervalo (%)
Y2= Reacción tisular	Se elaborará láminas de corte histológico de las cicatrices para evaluar la proliferación de fibroblastos. Se llevará a cabo en el laboratorio de Histología de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno	Fibroblastos	Buena Regular Escasa	

*Fuente: Elaboración propia.*

### **1.7. Consideraciones éticas**

Dentro de las consideraciones éticas que se consideraron y respetaron para la obtención de información en el presente estudio fueron: Se tuvo respeto por la vida y el sufrimiento durante la experimentación con los animales. Se dio confort a los animales de experimentación para evitar al máximo el estrés que puedan sufrir. Se aplicó un protocolo de anestesia aprobado para evitar el dolor durante la experimentación. Finalmente se aplicó un protocolo de eutanasia evitando el sufrimiento animal.



## CAPITULO II: MARCO TEORICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

En el contexto internacional, un estudio en Colombia, evaluó el efecto cicatrizante de las siguientes tinturas medicinales: guarango (*caesalpinia spinosa*) concentración de 20%, Sangre de Grado (*Croton lechleri*) concentración de 20% y una mezcla de ambas 1:1. Se evaluó en heridas de castración de lechones. Obtuvo un mejor efecto la mezcla de Guarango y Sangre de Grado con cicatrización completa a los 13 días, Guarango 16 días y Sangre de Grado 17 días (8).

En el ámbito nacional, un estudio fue realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Elaboraron geles a base de Sangre de Drago (*Croton lechleri* Müell. Arg) con las siguientes concentraciones: 0.5% , 1% y 2% y evaluaron el efecto cicatrizante de estos geles en lesiones incisivas de 1cm en el lomo de ratón *rattus rattus* Var. *albinos*. Previamente estos animales fueron aclimatados, el peso de los ratones fue de 23 a 25gr. Obtuvieron un mejor efecto cicatrizante con el gel al 2% de Sangre de Drago (6).

En una investigación sobre el efecto citoprotector y antiseptor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. Obtuvieron los siguientes resultados: el Aceite de Copaiba presento 100% de efecto citoprotector y el Omeprazol 97.8 %. Estos resultados fueron corroborados con análisis histopatológicos, demostrándose experimentalmente la efectividad al 100% del Aceite de Copaiba (7).

La región de Madre de Dios, está en pleno desarrollo en el ámbito de investigación, pero aún no existe reportes emitidos que hacen referencia a la comparación del efecto cicatrizante de *Copaifera paupera* (Hersog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de grado) y un cicatrizante comercial de uso veterinario.

## **2.2. Marco teórico**

### **2.2.1. Fitoterapia**

Henri Leclerc, médico francés (1870-1955), utilizó la expresión “Fitoterapia” para referirse al uso de plantas con propiedades medicinales como método curativo para diferenciarla de la medicina sintética. También conocida como medicina tradicional o autóctona, sus propiedades son corroboradas mediante el método científico en estudios en laboratorio para validar el uso popular. Resultados de estudios obtenidos por organizaciones prestigiosas son divulgadas para garantizar su correcto uso y seguridad de estas plantas con propiedades medicinales. De las plantas medicinales se han extraído nuevas sustancias a bajo precio, siendo este una gran relevancia económica en comparación con la síntesis de nuevos fármacos sintéticos. Todavía no se ha resuelto del todo como armonizar la medicina convencional con la fitoterapia. El interés científico por las plantas medicinales le ha dado una revalorización terapéutica en función de estudios y evidencia científica (9).

Las plantas medicinales han sido usadas por el hombre desde el inicio de su historia, su contacto con la naturaleza y su forma de alimentarse, fue acumulando experiencia y conocimiento sobre las propiedades terapéuticas que han sido transmitidos a generaciones posteriores. En la actualidad se intenta validar las propiedades farmacológicas y terapéuticas de estas plantas de uso tradicional mediante estudios en laboratorio usando procedimientos científicos y la experimentación clínica (10).

La fitoterapia emplea núcleos vegetales que son plantas enteras, o partes de ella, que son los extractos que contienen el principio activo de las plantas. Al utilizar este núcleo complejo de las plantas medicinales presenta un amplio número de sustancias de diferente naturaleza, a todo ese coctel de sustancias se conoce como fitocomplejo. El fitocomplejo es el conjunto de sustancias activas y otras sustancias coadyuvante que hacen sinergismo para cumplir un objetivo terapéutico, dicho sinergismo terapéutico se vería afectado si se emplea por separados cada sustancia del fitocomplejo (9).

Es por eso el interés científico de seguir estudiando nuevos usos terapéuticos a las plantas medicinales de uso tradicional. Asignarle valor

científico hará revalorizar el potencial de estas plantas en la Medicina Humana y la Medicina Veterinaria.

## 2.2.2. *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba)

### 2.2.2.1. Clasificación taxonómica

- Nombre científico: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer
- Familia: Fabaceae
- Nombres comunes: “Copaiba”, “Aceite de Copaiba” (11).

### 2.2.2.2. Distribución geográfica

Unas 72 especies agrupa el género *Copaifera* (12). Se encuentra en las regiones tropicales de América latina y África occidental. En América latina se encuentran especies de copaiba desde México hasta el norte Argentina (12).

En Perú las regiones donde podemos encontrar el género *Copaifera* es en Madre de Dios, Ucayali y Loreto (1).



**Figura 1.** Regiones donde el género *Copaifera* se encuentra (12).

### 2.2.2.3. Aspectos generales del Copaiba

Los *Copaiferas* son árboles de crecimiento lento, alcanzando 25-40 metros de altura y puede vivir hasta 400 años. El tronco es áspero de color oscuro, con un diámetro de 80 cm. Presenta hojas unidas al tallo mediante un peciolo. Sus flores son hermafroditas que posee pistilos y estambres,

dispuestos en racimos unido al tallo. En su fruto posee una semilla de forma ovoide, de color negro y cubierta sólida (1).

Fructificación y floración del árbol *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, ocurre alrededor de los 5 años. La floración se da a finales de la estación seca entre los meses de octubre y noviembre, la fructificación a inicios de la estación de lluvias en los meses de noviembre a diciembre (13).

En el Perú distribuida en el territorio amazónico debajo de los 1200 msnm, se encuentra en zonas muy lluviosos, así como también en territorios con una marca estación seca; esta especie requiere de la luz solar para realizar sus procesos metabólicos para su desarrollo por lo que se le considera heliofita, se encuentra presente en monte secundarios tempranos y tardíos (13).

La madera de copaiba es uno de los recursos más aprovechables por su calidad. Es muy blanda y liviana (13).

La oleorresina de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, constituye un recurso forestal no maderable, posee propiedades terapéuticas como cicatrizantes para lesiones causadas en piel. Utilizada y reconocida desde tiempos ancestrales por las tribus indígenas en la amazonia de Madre de dios, su uso es aceptada por sus propiedades medicinales. También utilizada en la industria cosmética y fragancia (14).

Son dos las prácticas de extracción. El método tradicional que se realiza incisiones o cortes con hacha al tronco del árbol de copaiba, el más conocido es la incisión en forma de V utilizando recipientes para la su recolección. El detalle es que con este método se provocaría más adelante la muerte del árbol debido a que quedaría expuesto a muchos patógenos (12).

El método no agresivo de extracción. Se realiza realizando una incisión con taladro, post recogida del aceite de copaiba se tapa a incisión con arcilla para evitar que ingresen patógenos al tronco del árbol (12).

#### **2.2.2.4. Composición química del Aceite de Copaiba**

La oleorresina de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, se encuentra en los espacios intercelulares en forma de canales ubicados en todas las partes

del árbol, canales llamados esquizógenos, que mediante exudación formaran la oleorresina (12).

La composición de la oleorresina es:

- Aceites volátiles.....15%
- Resinas y Ac. Grasos.....85%
- Resinas: Sesquiterpenos, diterpenos (ácido Kaurenoico y ácido Copalico) y ácido terpénico.
- Ac. Grasos: 60 % son insaturados y un 36 % saturados.
  - ✓ Vaccenico
  - ✓ Linoleico
  - ✓ Elaidico
  - ✓ Palmítico
  - ✓ 10, octadienoico
  - ✓ Behenico
  - ✓ Lignocerico
  - ✓ Los otro 4% por:
    - ácido araquidico,
    - 11- eicosano,
    - esqualeno,
    - butil hidorxitolueno
    - vitamina E (15) (16).

#### **2.2.2.5. Propiedades del Aceite de Copaiba**

La oleorresina de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, ha sido utilizado por muchas propiedades terapéuticas que posee como gastroprotector, cicatrizante de heridas de piel, antiinflamatoria, la acción bactericida que cumple los sesquiterpenos es debido a que actúa a nivel de la membrana celular aumentando su permeabilidad y desestabilizandola. (17).

### **2.2.3. *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado)**

#### **2.2.3.1. Taxonomía**

- Nombre científico: *Croton lechleri* Müell. Arg.
- Familia: Euphorbiaceae.
- Nombre común: Sangre de grado (11).

#### **2.2.3.2. Distribución geográfica**

En América tropical y subtropical como Ecuador, Colombia, y Perú. En nuestro país, Perú, se encuentra en los departamentos de Cuzco; Cerro de Pasco; Huánuco; Junín; Ucayali; Loreto; Madre de Dios; y San Martín. (1) (10).

#### **2.2.3.3. Descripción**

El árbol presenta una altura de aproximadamente 20 metros con un diámetro de 15 a 25 cm, la corteza es de color blanquecina grisácea. Al cortar el tronco emana un látex de color rojizo de diferentes tonalidades. Dos glándulas se encuentran en la base de la hoja, la medida de las hojas es de 12 a 20 cm de largo por 5 a 14 cm de ancho. La disposición de las flores es en forma de racimo laxos con una longitud superior a 30cm. El fruto es de 3cm de largo por 4.5 mm de ancho (1).

Tradicionalmente la extracción para uso comercial es tumbar el árbol y realizar cortes en forma oblicua de izquierda a derecha en la corteza para eso el árbol tiene que ser de más de 8 años de edad. Pero para uso familiar se extrae el látex haciendo los cortes en la corteza sin tumbar el árbol (18).

#### **2.2.3.4. Composición química**

En el látex rojo se identificó esteroides, cumarinas, alcaloides [tipo isoquinoléico y fenantrénico (Taspina)]. La Taspina es el principio activo que propicia la cicatrización mediante la migración de fibroblastos al lugar de la lesión de la piel, siendo la Taspina un alcaloide. El látex presenta otras sustancias como son Flavonoides, taninos (54%), saponinas (baja

concentración), antocianinas, proantocianidina-1, proantocianidina-4, proantocianidina SP303; antracenos; compuestos reductores (4%) como lactosa, galactosa y ramnosa, triterpenoides, compuestos fenólicos (ácido gálico); además contiene vitamina A, E y C3-5; contiene ácidos orgánicos de carácter débil, almidón, celulosa, grasas, lignanos (dihidrobenzofurano 3,4-0-dimetilcedrusina y dihidrobenzofurano 4-0-metilcedrusina), mucílagos, proteínas, catequinas (epicatequina, galocatequina, epigallocatequina) (18).

### **2.2.3.5. Usos medicinales**

El látex de Sangre de Grado es utilizado para el tratamiento de muchas afecciones, como cicatrizantes de heridas de piel, úlceras gástricas, estimula el sistema inmunológico, presenta actividad contra bacterias impidiendo su replicación y eliminándolas, también presenta actividad contra hongos y virus (18).

### **2.2.4. Kil AG**

#### **2.2.4.1. Descripción**

Cicatrizante antimiasico en aerosol (19).

#### **2.2.4.2. Formula o composición**

Clorpirifós .....	2 g
Cipermetrina .....	0,4 g
Sulfadiazina de plata.....	0,1 g
Aluminio micronizado .....	5 g
Excipientes c.s.p.....	100 g (19).

#### **2.2.4.3. Indicaciones**

Es un producto comercial que tiene gran actividad contra miasis instalada en el cuerpo animal, además sirve para prevenir la infestación de miasis aplicando el producto en heridas accidentales y quirúrgicas. Su poder antiparasitario contra miasis se debe al Clorpirifos y a la Cipermetrina. La sulfadiazina le da un poder bactericida contra las principales bacterias que

afecta la piel que pueden ser bacterias gran (+) y gran (-). También es importante destacar el poder bacteriostático del aluminio micronizado que además forma una capa protectora plateada en la herida. Debido a sus propiedades astringentes, el aluminio favorece la precipitación de las proteínas, facilitando la cicatrización. Así mismo se le atribuye cierta actividad antimicrobiana por su poder astringente (19).

### **2.2.5. Piel**

El tegumento común o piel, es el órgano más grande del mamífero constituye el límite externo del organismo con su ambiente (20). Constituye la cubierta protectora anatómica, fisiológica del cuerpo animal y su medio, que se continua en las aberturas naturales con las membranas mucosas del sistema respiratorio, digestivo y genital (21). Es un órgano de estimulación táctil debido a que está dotado por terminaciones nerviosas, es el principal órgano sensorial del cuerpo animal (22).

La piel y las estructuras anexas cumplen diferentes funciones que son:

- Barrera defensiva: Protege al organismo de las agresiones del ambiente ya sean mecánicas, físicas o químicas, además de proteger de la luz ultravioleta. También ejerce funciones antibacterianas y antifúngicas (22).
- Sensorial: Es el mayor órgano sensorial del cuerpo animal por que posee varias terminaciones nerviosas que recibe diferentes sensaciones como dolor, temperatura, presión y tacto (22).
- Termorregulación: Regula la temperatura corporal mediante la vasodilatación y vasoconstricción de sus vasos sanguíneas, además que el pelo y el tejido adiposo subcutáneo evitan la disminución de la temperatura (22).
- Funciones metabólicas: En el tejido tegumentario se realiza la biosíntesis de vitamina D gracias a las radiaciones ultravioleta. La vitamina D es necesario para la absorción intestinal del calcio. También constituye la reserva de triglicéridos como fuente de energía en el tejido adiposo



subcutáneo. También se realiza otros procesos metabólicos como la queratinización y otros productos complejos (22).

- **Excreción y absorción:** La piel a través de las glándulas sebáceas y sudoríparas mediante los conductos glandulares excretan sudor, sustancias olorosas y sebáceas evidenciando su función excretora. La piel constituye una barrera semipermeable por eso que la absorción de sustancias a través de la piel dependerá de la naturaleza de estas sustancias, los petrolatos son difícil de penetrar la piel, a diferencia de sustancias hidrosolubles que fácilmente se absorben en la piel (23).

### 2.2.5.1. Estructura de la piel

El tejido tegumentario está formado por la piel y sus anexos. La piel se compone de 3 capas que son la epidermis, dermis e hipodermis (24).

- **Epidermis:** Es la capa más superficial. Se trata de un epitelio escamoso estratificado queratinizado que se auto regenera, las células se disponen en estratos, existen regiones corporales que el número de estratos o capas difieren de una región con otra. La membrana basal es la que une la epidermis con la dermis permitiendo el paso de sustancias entre ambas. La epidermis es avascular: La vasculatura de la dermis nutre por difusión a la epidermis. Son cuatro tipos de células que forman esta capa: Los queratinocitos representan el 85% de las células epidérmicas, los melanocitos de 5%, las células de Langerhans de 3 a 8% y las células de Merkel el 2% (22).
  - **Queratinocitos:** Estas células son las encargadas de sintetizar la queratina de la piel, son sintetizadas constantemente para reemplazar a las células muertas del estrato más superficial. Aparte de producir queratinas estructurales, estas células epiteliales también producen citosinas que intervienen en la respuesta inmune (22).
  - **Células de Langerhans:** Estas células se encuentran en la zona superficial del estrato espinoso de la epidermis, en la dermis y en los ganglios linfáticos, estas células participan en el SMF (sistema

mononuclear fagocitario). Son responsables de las reacciones inmunes de la epidermis. Cumple una función inmunológica como presentadora de antígenos en la epidermis (20) (22).

- Melanocitos: Células que tienen origen embrionario en la cresta neural para luego migrar a la epidermis durante la etapa de embriogénesis. Se localizan en el estrato basal, en la vaina radicular externa y en la matriz de los folículos pilosos; y en los conductos de las glándulas sebáceas y sudoríparas. Los melanocitos producen dos tipos de melanina (eumelanina y feomelanina). Para la síntesis de melanina es necesario la actividad de la enzima tirosinasa. Existen animales que no sintetizan tirosinasa como los animales albinos, es por ello que no pueden producir melanina (22). Dentro de las funciones de los melanocitos se encuentra: Dar color a la piel y el pelo, protección contra los rayos ultravioleta y eliminación de radicales citotóxicos. La coloración específica de sectores de piel cumple con funciones de señalización para los congéneres o para los enemigos que compiten por alimento (20) (22).
- Celulas de Merkel : Receptores sensoriales tactiles que transmiten informacion de un estimulo tatil hacia las terminaciones nerviosas intraepiteliales libres. Estas celulas estan ubicadas inmediatamente debajo de la epidermis. Su principal funcion es participar en el sentido del tacto , aunque tambien participa en algunos procesos metabolicos (20) (22).

### **Estructura epidérmica.**

La epidermis es un epitelio estratificado con 5 capas o estratos.

- Estrato basal o germinativo: Formado por células cuboides principalmente, es la parte más profunda de la epidermis. Los desmosomas adhieren lateralmente a las células entre sí y son las hemidesmosomas que la unen con la membrana basal. Presenta gran actividad mitótica y es responsable de la constante renovación de los

demás estratos celulares (22). Consiste en una capa única de célula. Siendo este el sitio de producción de queratina (25).

- Estrato espinoso: Formado por más de 2 a 5 capas de células poliédricas o cuboides a planadas unidas por desmosomas. Estas células sintetizan varias queratinas (22).
- Estrato granuloso: Los gránulos que presentan estas células son queratohialina. Estas células tienen forma fusiforme (22).
- Estrato lucido: Se hallan en las partes más gruesas o muy queratinizadas y sin pelo de la epidermis como las almohadillas plantares y en la piel nasal. Está compuesto por células plana muertas anucleados (22).
- Estrato corneo: Formado por múltiples células aplanados anucleados cornificadas. Es la principal barrera frente al ambiente. Son eliminadas constantemente para ser reemplazadas por la proliferación de las células basales. La filagrina une fuertemente los macrofilamentos de queratina lo que lo hace semi permeable y resistente a la invasión de microorganismo (22) (24).

**Membrana basal:** Esta membrana constituye la unión de la epidermis y la dermis. es una membrana homogénea, eosinofílica. Estructura formada por cuatro espacios de epidermis hacia dermis (22).

Membrana de células basales:

- Membrana celular del queratinocito con sus hemidesmosomas
- La lamina lucida, compuesta por glucoproteínas.
- Lamina densa, con presencia de colágeno IV.
- La zona fibrosa o sublámina densa (22).

Tiene la siguiente función:

- Unión de la epidermis con la dermis.

- Mantener la actividad funcional y estructural de la epidermis
  - Mantener la estructura histológica.
  - Actúa como barrera selectiva de moléculas y células entre la epidermis y la dermis.
  - Regula el proceso nutritivo entre la epidermis y la dermis (22).
- **Dermis:** Tejido conectivo unido a la epidermis por la membrana basal. Su misión es dar matriz para estructura de soporte mecánico y nutrir a la epidermis. Compuesta por una matriz fibroelástica (elastina y colágeno). La dermis está dividida en dos partes: Dermis superficial y dermis profunda, la más externa denominada papilar, Esta parte de la dermis formada por tejido conectivo laxo presenta gran cantidad de vasos sanguíneos importante en la nutrición de la epidermis, además de intervenir en la termorregulación de la temperatura corporal. La capa más profunda denominada reticular se trata de un tejido conectivo denso con menos cantidad celular y fibras de colágenos más gruesa (22).

La dermis tiene tres componentes: Células, fibras y sustancia fundamental:

#### **Componente celular:**

- Fibroblastos: Son las más importantes y numerosas.
- Dendrocitos: Células presentadoras de antígenos.
- Melanocitos: Células pigmentarias.
- Mastocitos: Entorno a los vasos sanguíneos superficiales y estructuras anexas.
- Leucocitos como neutrófilos, eosinófilos, linfocitos. En piel normal se encuentra en un reducido porcentaje (22).

**Fibras:** Existen fibras de colágeno y fibras elásticas: Las fibras de colágeno representan el 90%, formado por colágeno en las siguientes proporciones: Colágeno tipo I 87%, tipo III 10% y tipo V 3%, aportándole firmeza mecánica a la dermis. Las fibras elásticas

representan 4% de la matriz extracelular. Otorga elasticidad a la piel, de este modo puede retornar a su estado original después de haber sido deformada mecánicamente (22).

**Sustancia Fundamental:** Esta se interpone entre las fibras y les sirve de lubricante, para facilitar el movimiento de la piel. Es una barrera que evita la penetración de agentes infecciosos, posee sustancia como el Ac. hialurónico, mucina, versican, condroitin 6-sulfato, y otros (22).

- **Hipodermis:** El 90% corresponde a triglicéridos, también conformado por tejido conectivo laxo, lipocitos, estructuras nerviosas y sanguíneas. Sirve como aislante del frío, depósito energético, sirve de absorbentes de golpes, e cubierta de vasos sanguíneos y nervios (22).

Están presente estructuras anexas como glándulas sebáceas, folículos pilosos y otros (22).

### 2.2.6. Herida

Es una discontinuidad anormal de un tejido causada por alguna lesión. Su gravedad de la herida dependerá de muchos factores como, la extensión de la herida, el objeto que lo provoco, la profundidad y el grado de contaminación (26).

Clasificación: Se clasifican en heridas abiertas y heridas cerradas.

- Heridas cerradas son causadas por golpes. Pero sin llegar a romper su continuidad, la piel presenta una apariencia intacta, pero el tejido subyacente puede estar lesionado gravemente por la magnitud de la contusión y por el daño producido en la circulación sanguínea en área de la lesión pudiendo causar daños en musculo, tendones, etc. (27).

Las heridas abiertas de acuerdo con el mecanismo desencadenante se clasifican en:

- **Una avulsión.** Es el desgarrar o desprendimiento de tejido, puede estar altamente contaminado por partículas extrañas. La piel desgarrada podría estar perdida o demasiado dañada para repararla y necesita ser removida. Se da mayormente por accidentes de atropellos vehículo-perro- asfalto (27).
- **Laceración:** Desgarro superficial, el grado de infección de la herida estará sujeto al tiempo transcurrido entre el accidente y la atención médica recibida, debido a que cada hora que transcurre el grado de contaminación o infección aumenta (27).
- **Una incisión.** Es causada por un objeto cortante o bordes lisos (27).
- **Las punciones.** Son heridas penetrantes causado por un objeto puntiagudo. Este tipo de lesión puede introducir bacterias con el objeto puntiagudo causando un cuadro de infección grave (27).

De acuerdo al grado de contaminación las heridas abiertas se clasifican en:

- **Clase 1:** Grado de contaminación menor. Se da en lesiones causadas por incisiones y laceraciones (27).
- **Clase 2:** Cuando transcurre de 6 a 12 horas sin atención médica, provocando una contaminación importante (27).
- **Clase 3:** Altamente contaminadas con presencia de tejido necrótico. Herida sin atención médica por más de 12 horas y además de estar expuesta a agentes altamente infecciosos (27).

### 2.2.7. Cicatrización

Es un proceso fisiológico que restaura la integridad tisular en una herida. Es una serie de eventos biológicos, para restaurar el tejido lesionado o sustituirlo por proteína llamada colágeno, este proceso se inicia inmediatamente tras la lesión. El proceso de la cicatrización de la piel tiene cuatro fases (26).

### 2.2.7.1. Fases de la cicatrización

- **Fase inflamatoria:** Esta fase se caracteriza por un aumento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis de células circulatorias, liberación de citocinas, factores de crecimiento, y activación celular (macrófagos, neutrófilos, linfocitos y fibroblastos). La hemorragia limpia y rellena las heridas inmediatamente después de la lesión. Los vasos sanguíneos se contraen durante 5-10 minutos para limitar la hemorragia, pero después se dilatan y dejan pasar a la herida fibrinógeno y elementos coagulantes. Las células de la fase inflamatoria como las plaquetas, los mastocitos y los macrófagos secretan factores de crecimiento y citocinas que inician y mantienen la fase proliferativa de la cicatrización. Los mediadores inflamatorios (es decir, histamina, serotonina, enzimas proteolíticas, cininas, prostaglandinas, complemento, enzimas lisosómicas, tromboxano y factores de crecimiento) producen la inflamación, que comienza justo después de la lesión y dura aproximadamente 5 días. Los leucocitos, que se filtran desde los vasos sanguíneos hasta la herida, inician la fase de desbridamiento (26).
- **Fase de desbridamiento:** Se forma en la herida un exudado compuesto de leucocitos, tejido muerto y fluidos de la herida. Los quimiotáxicos atraen a los neutrófilos y monocitos hacia las heridas (aproximadamente 6 y 12 horas tras la lesión, respectivamente), y se inicia el desbridamiento. Los neutrófilos se incrementan durante 2-3 días; previenen la infección y desbridan organismos y detritos mediante fagocitosis. Los neutrófilos en degeneración liberan enzimas y productos tóxicos por oxígeno, que destruyen bacterias, desbridados extracelulares y material necrótico, además de estimular a los monocitos. Los monocitos son células secretoras que sintetizan factores de crecimiento que participan en la formación tisular y en el remodelado. Los monocitos se convierten en macrófagos en la herida a las 24-48 horas. Los linfocitos aparecen en la fase de desbridamiento más tarde que los neutrófilos y macrófagos. Los linfocitos secretan factores solubles que pueden estimular o inhibir la migración y la síntesis proteínica en otras células. Sin embargo, suelen mejorar el índice y calidad del tejido de reparación (26).

- **Fase de reparación:** Esta fase suele comenzar 3-5 días de provocada la herida. Los encargados de estimular la proliferación de ácido desoxirribonucleico (ADN) y fibroblastos son los macrófagos. Las citocinas, junto con las moléculas de la matriz extracelular, estimulan la proliferación de fibroblastos en el tejido adyacente, expresan los receptores apropiados de integrina y migran hacia las heridas. Los fibroblastos migran a la herida justo antes de la formación de nuevos capilares al final de la fase inflamatoria (2-3 días). Cuando la herida madura se aprecia un incremento notable en el porcentaje de colágeno tipo I (maduro) con respecto al tipo III (inmaduro). El colágeno alcanza un máximo en las 2-3 semana siguientes a la lesión (26).
- **Fase de maduración:** La maduración de la herida comienza una vez que el colágeno se ha depositado correctamente en la herida (17-20 días tras la lesión) y puede continuar durante años. Las fibras de colágeno se remodelan, alterando su orientación y aumentando el entrecruzamiento, lo cual aumenta la resistencia de la herida. Las cicatrices se vuelven, durante la maduración, menos celulares, más planas y blandas. La síntesis y lisis de colágeno se producen a la misma velocidad en las cicatrices en maduración (26).

#### 2.2.7.2. Tipos de cicatrización

- **Cicatrización de Primera Intención:** Se observa en heridas operatoria o en las heridas incisas. Son heridas limpias, en el cual se realiza el afrontamiento de los bordes de la herida mediante suturas u otros métodos. Presenta un tiempo de cicatrización menor, siendo mucho más estética la cicatrización (26).
- **Cicatrización por Segunda Intención:** Se da cuando no es posible afrontar los bordes de la herida o está muy contaminada, la herida queda abierta para su cicatrización. Esta ocurre en forma lento y habitualmente se forma tejido de granulación y cicatriz larga y antiestética (28).
- **Cicatrización por tercera intención:** Se da por afrontamiento de dos superficies de tejido de granulación para acelerar la cicatrización de la herida (28).



- **Cicatrización por cuarta intención:** Cuando se utiliza injertos cutáneos para acelerar la cicatrización (29).

### 2.2.7.3. Factores que afecta la cicatrización

Factores del hospedador que afecta la cicatrización:

- Mal nutrición e hipoproteinemia.
- Hepatopatías.
- Hiperadrenocorticismo.
- Diabetes mellitus.
- Uremia (26).

Característica de la herida que afecta la cicatrización:

- Cuerpos extraños: Puede causar una reacción inflamatoria intensa que interfiere con la cicatrización normal.
- La tierra: Puede contener infección, potenciando factores que inhiben a los antibióticos, leucocitos y anticuerpos.
- La exposición de la herida a los antisépticos.
- La infección de la herida interfiere con la fase de reparación.
- Presencia de tejido necrótico.
- Carga bacteriana (número de bacteria presentes).
- Hematoma.
- Vascularización: La inhibición del aporte sanguíneo debida a traumatismo, vendajes compresivos o movimiento de la herida ralentiza la cicatrización (26).

Factores externos que afecta la cicatrización:

- Los corticoesteroides deprimen todas las fases de la cicatrización e incrementan la posibilidad de infección.
- Algunos quimioterápicos (p. ej., ciclofosfamida, metotrexato y doxorubicina) inhiben la cicatrización.

- La radioterapia puede inhibir fuertemente la cicatrización (26).

### **2.2.8. Experimentación animal**

Es de gran importancia el empleo de animales de laboratorio para las investigaciones biomédicas. Son usados como instrumento biológico para estudiar la causas, diagnóstico y tratamiento de diferentes enfermedades que afectan al hombre y a los animales. También son utilizados en la producción de fármacos. Representa un elemento fundamental el uso de animales de laboratorio para la investigación de enfermedades transmisibles y no transmisibles tanto en el hombre como en los animales (30).

#### **2.2.8.1. Importancia en la experimentación biomédica**

Los conocimientos acerca de la fisiología del cuerpo humano y animal, en gran parte lo tenemos gracias a siglos estudios realizados con animales de experimentación. Gran parte de los últimos avances médicos se debe a estudios realizados con estos animales de investigación en el campo de la medicina. Estos resultados nos dan información que permite predecir el efecto de un nuevo fármaco sobre el organismo de los demás animales incluido el hombre (31).

Muchos avances en medicina tanto para la prevención y tratamientos de enfermedades en humanos, han servido para mejorar el estado salud en animales. Siendo estos resultados de estudios en animales de laboratorio (31).

#### **2.2.8.2. Avances en Medicina Veterinaria**

El porcentaje de investigación que se realiza con animales de laboratorio en medicina veterinaria es de 5 %, gracias a estos estudios se logró el desarrollo de vacunas y tratamientos para enfermedades en animales como la rabia, parasitosis, etc. (31).

### **2.2.9. El Ratón *Mus musculus***

Estos roedores son los animales más usados en las investigaciones médicas, debido a las ventajas que presenta para su manejo (32).

#### **2.2.9.1. Taxonomía**

Clase: Mamalia.

Orden: Rodentia.

Familia: Muridae.

Género: Mus.

Especie: *musculus* (32).

#### **2.2.9.2. Características**

Este animal se adapta a diferentes climas, desde zonas muy frías hasta regiones tropicales. Presenta hábitos nocturnos, su sentido de olfato está muy desarrollada para percibir alimento, depredadores y distinguir un orden social (32).

Presenta una visión limitada sin distinguir colores. Viven en grandes grupos siendo generalmente dóciles. En edad adulta llegan a medir de 12 a 15 cm incluido con la cola, con un peso de 30gr aproximadamente, llegando a tener una vida útil de 10 a 12 meses. Consume de 3 a 5 gr de alimento por día y 5 ml de agua ab libitum (32).

Ventajas en la investigación:

- De fácil manejo.
- Accesibilidad económica.
- Variedad de cepas definidas para investigación.
- Características fisiológicas que lo hace un buen modelo experimental.
- Características reproductivas eficiente (32).

### 2.3. Marco conceptual

**Aceite de copaiba:** Es la oleoresina producida en tronco de los árboles del género *Copaifera*, constituye un recurso forestal no maderable que posee propiedades terapéuticas como cicatrizantes para heridas de la piel, antiinflamatorio, antitumor, antiséptico urinario, y úlceras (14) (17).

**Ácido Copalico:** Es un diterpeno presente en el aceite de copaiba (15) (16).

**Ácido Kaurenoico:** Diterpeno que se encuentra en el aceite de copaiba (10) (16)

**Diterpenos:** Son hidrocarburos complejos. Que dan el efecto terapéutico a muchas plantas (33).

**Cicatrización:** Es un proceso fisiológico que restaura la integridad tisular en una herida. Es una serie eventos biológicos, para restaurar el tejido lesionado o sustituirlo por proteína llamado colágeno (26).

**Fitoterapia:** Utilización de las plantas medicinales con fines terapéuticos, para diferenciarla de la medicina sintética. También conocida como medicina tradicional o autóctona (9).

**Kil AG:** Producto comercial que tiene gran actividad contra miasis instalada en el cuerpo animal, además sirve para prevenir la infestación de miasis aplicando el producto en heridas accidentales y quirúrgicas. Posee actividad cicatrizante y bactericida (19).

**Sangre de grado:** Látex rojo extraído de la corteza del árbol *Croton lechleri* que posee propiedades medicinales como cicatrizante de heridas y otras afecciones (18).

**Taspina:** Es un alcaloide de propiedades cicatrizante que se encuentra en el látex o sangre de grado, estimula la migración de los fibroblastos en la zona lesionada (18).

## CAPITULO III: METODOLOGIA DE INVESTIGACION

### 3.1. Tipo de investigación

La investigación corresponde al modelo experimental, consistió en evaluar y comparar la media porcentaje de cicatrización de cada tratamiento; así mismo se evaluó la reacción tisular de las cicatrices de cada tratamiento de estudio.

### 3.2. Diseño de la investigación

Se utilizó el diseño aleatorizado, cuyo modelo estadístico es el siguiente.

$$Y_{ij}=U+T_{ij}+E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  es la variable respuesta de la  $j$  – esima unidad experimental bajo la  $i$ - esima edad.

$U$ , es la medida de la población.

$T_{ij}$  es el efecto de la  $i$ - sima edad.

$E_{ij}$  es el efecto azar o factor aleatorio.

Se utilizó la estadística descriptiva. Se realizó Análisis de Varianza (ANOVA) para evaluar la eficacia de los tratamientos. Para comparar los resultados de cada tratamiento con el grupo testigo se aplicó la prueba de Dunnett. Para determinar que producto cicatrizante es mejor se comparó las medias de porcentaje de cicatrización utilizando el método de Tukey cuya fórmula es la siguiente:

Formula de la prueba de Tukey:

$$w = q \times \sqrt{\frac{CME}{r}}$$

Donde:

q = Valor de la tabla de tukey de 5%

r = Numero de repeticiones

CME = Cuadrado medio del error

### **3.3. Delimitación espacial y temporal**

#### **3.3.1. Delimitación espacial**

El estudio se ejecutó en el laboratorio de experimentación de la escuela profesional de Medicina Veterinaria - Zootecnia de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios ubicado en el distrito de Tambopata Provincia de Tambopata Región de Madre de Dios, altitud de 186 msnm, latitud sur de 12°35'18" y longitud oeste de 69°12'32", con una temperatura media anual de 25.4°C. El análisis histopatológico de las muestras de piel se realizó en el laboratorio de histología y embriología de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno

#### **3.3.2. Delimitación Temporal**

El estudio se realizó entre los meses de setiembre y octubre. Considerando desde la aclimatización de los ratones hasta su análisis histopatológico de las muestras de piel.

### **3.4. Población y muestra**

#### **3.4.1. Selección de animales de estudio**

Se utilizó un total de 60 ratones los mismos que fueron distribuidos al azar en cinco grupos como se muestran en el cuadro siguiente.

**Tabla 2.** Distribución por tratamiento de ratones albinos *Mus musculus*.

TRATAMIENTOS	SIGLA	NUMERO DE RATONES
Piel intacta	T0	12
Testigo	TT	12
Sangre de grado	TSG	12
Aceite de copaiba	TAC	12
Kil AG	TKIL	12

Fuente: *Elaboración propia.*

El tratamiento de ratones de piel intacta (T0) al cual no se le realizó ninguna incisión ni se aplicó ningún tratamiento, fueron utilizados para obtener el promedio de gramos necesarios para abrir la piel intacta, que fue un dato que se utilizó en la fórmula matemática para obtener el porcentaje de cicatrización de cada grupo de tratamiento.

El tratamiento testigo (TT) nos permitió ver el efecto cicatrizante de los otros tratamientos y nos permitió determinar si hay diferencias entre tratamientos.

Los tratamientos sangre de grado (TSG), aceite de copaiba (TAC) y Kil AG (TKIL) sus efectos cicatrizantes fueron evaluados.

### **3.5. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos**

#### **3.5.1. Métodos y técnicas**

##### **3.5.1.1. De los ratones**

Se utilizó 60 ratones albinos (*Mus musculus*) procedentes del Instituto Nacional de Salud. Con edad de 75 días y pesos promedio de 29.78 gr, previamente los animales fueron aclimatados en el laboratorio de experimentación durante un periodo de 4 días con una temperatura promedio de 27° (con comida y agua a libertad). El alimento para los ratones fue adquirido del Instituto Nacional de Salud.

### **3.5.1.2. Corte de piel de los ratones.**

Después de los 4 días de aclimatación se les depiló la mitad inferior del lomo y se procedió a realizar el corte de la piel.

Para este procedimiento se aplicó un protocolo de anestesia a base de Ketamina a dosis de 70 mg/kg y xilacina 5 mg/kg vía intramuscular por animal (34). Se aplicó un antiséptico en el área afeitada, y mediante un bisturí número 18, se realizó incisiones de 1cm de longitud paralelo a la columna vertebral en la zona lumbar.

### **3.5.1.3. De la aplicación de los productos (Copaiba, Sangre de Grado y Kil AG)**

Luego de la incisión de la piel de los ratones albinos se aplicó los tratamientos con los respectivos cicatrizantes a cada grupo directamente sobre las heridas con ayuda de hisopos, se aplicó diariamente cada 12 horas durante diez días. Cuando se culminó el tratamiento, al décimo día se aplicó un protocolo de eutanasia con pentobarbital sódico con aplicación intraperitoneal.

### **3.5.1.4. Método tensiómetro**

Esta prueba se basó en la técnica descrita por Howes et al., (1929). Consistió en la aplicación de fuerza mecánica de tensión para abrir las cicatrices, utilizándose para tal fin gramos de arena (35).

#### **Procedimiento:**

- Se tomaron aleatoriamente 6 animales de cada grupo.
- Un lado de la herida cicatrizada fue tomado con una aguja cortante sujeto a un dinamómetro.
- Luego se calculó los gramos de arena para abrir la cicatriz.



### **3.5.1.5. Procesamiento y Evaluación histológica de las muestras de piel**

#### **3.5.1.6. Técnica Histológica**

Para la observación microscópica de las células y tejidos de la piel se realizó una serie de procedimientos aplicados al material biológico que en este caso fue la piel cicatrizada. Se realizó de la siguiente manera.

##### **a) Toma de muestra**

Se realizó inmediatamente después de haberse eutanasiado a los ratones.

##### **Procedimiento:**

Se tomaron los animales restantes de cada grupo, que fueron 6 animales por grupo y mediante excisión de un área de 2cm x 2.5 cm se extrajo el área de la piel con cicatriz experimental. Las muestras se sujetaron en poliestireno (teknopor) para evitar que se enrollen.

##### **b) Fijación**

Este procedimiento se realizó con el fin de mantener las estructuras de los tejidos evitando los procesos autolíticos post mortem.

##### **Procedimiento:**

Las muestras fueron separadas y depositadas individualmente en formol al 10%. Los cuáles fueron transportados al laboratorio de histología y embriología de la facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

##### **c) Deshidratación**

Después de haber sido fijado el tejido fue necesario realizar el proceso de deshidratación, por cuanto son ricos en agua. Además, para la inclusión de los tejidos en parafina fue imprescindible trabajar con un tejido

completamente deshidratado. Como el tejido fue fijado con formol, se procedió a lavar los tejidos con agua corriente durante 24 horas. Para este proceso de deshidratación se utilizó el alcohol etílico.

#### **Procedimiento:**

- i. Alcohol etílico al 70%.....45min
- ii. Alcohol etílico al 70%.....45min
- iii. Alcohol etílico al 70%.....45min
- iv. Alcohol etílico al 75%.....45min
- v. Alcohol etílico al 75%.....45min
- vi. Alcohol etílico al 80%.....45min
- vii. Alcohol etílico al 90%.....45min
- viii. Alcohol etílico al 100%.....45min
- ix. Alcohol etílico al 100%.....45min
- x. Cloroformo.....45min

#### **d) Inclusión en parafina**

Una vez que se realizó el proceso de deshidratación se pasó inmediatamente a la inclusión en parafina. El objetivo de este procedimiento fue impregnar de parafina los tejidos, de tal manera que ingrese a todas las cavidades naturales, espacios e intersticio tisulares y aun los espacios intracelulares, para que produzca una solidez y resistencia adecuada y sea factible el corte delgado en micras mediante el microtomo.

La parafina utilizada oscila su punto de fusión entre 54 °C y 56 °C. La parafina se expuso en una estufa especial cuya temperatura estuvo a 56 °C.

#### **Procedimiento:**

En la estufa se colocó 4 recipientes de los cuales dos fueron vasos precipitados y dos recipientes de acero inoxidable de boca ancha numerados de 1 a 4.

En el recipiente 1 se colocó 50% de parafina y 50% de cloroformo.

En el recipiente 2 se colocó parafina pura.

En el recipiente 3 se colocó parafina pura.

En el recipiente 4 se colocó parafina pura.

- i. En el recipiente 1 se colocó el tejido 1 hora.
- ii. En el recipiente 2 se colocó el tejido ½ hora.

- iii. En el recipiente 3 se colocó el tejido ½ hora.

Finalmente, el recipiente 4 se utilizó para realizar los bloques o tacos. Para realizar el bloque, se llevó el tejido que había permanecido en los recipientes 1, 2 y 3 a un molde especial que consta de dos piezas de bronce al cual se le vació la parafina del recipiente 4. Luego se dejó enfriar el bloque, una vez enfriado en bloque se retiró fácilmente del molde utilizado.

### **e) Microtomía (corte de tejido)**

Los cortes delgados de 4 micras se obtuvieron mediante el uso del microtomo.

#### **Procedimiento:**

- i. Se sujetó el bloque de parafina en forma paralelo al filo de la cuchilla.
- ii. Una vez listo se giró el volante con un impulso firme, suave y lento, para obtener cortes seriado y completos.
- iii. Los cortes seriados se llevaron a baño maría que contenía agua destilada tibia a 42 °C. para estirarlos para que su visualización sea completa y clara.
- iv. Luego se tomó un porta objetos, la que previamente se le agregó a su superficie una delgada capa de albumina de Mayer, que ayudó que el tejido esterado se adhiera firmemente.
- v. Inmediatamente después se llevó a una porta lamina especial, donde quedo inclinado a un ángulo de 45° a 60°, luego se colocó las láminas en la estufa por 10 minutos para que seque.

### **f) Coloración de Hematoxilina – eosina**

La coloración de las láminas consistió en teñir los núcleos mediante hematoxilina. Los núcleos se colorearon de azul o azul morado. El citoplasma y material extracelular se tiñeron de diversos grados de color rosado.

#### **Procedimiento:**

Desparafinar

Xilol..... 8 min.

Xilol.....5 min.

Xilol.....3 min.

Hidratación

Alcohol absoluto 100%.....5 min.

Alcohol absoluto 100%.....	3 min.
Alcohol absoluto 95%.....	3 min.
Agua destilada.....	5 min.
Colorear	
Hematoxilina de Harris.....	10 min.
Lavado en agua destilada	
Agua destilada.....	1 min.
Diferenciar	
Alcohol acido.....	sumergir.
Agua destilada.....	2 min.
Viraje	
Carbonato de Litio.....	3 min.
Agua corriente.....	5 min.
Coloración	
Eosina.....	1 min.
Deshidratación	
Alcohol absoluto 95%.....	2 min.
Alcohol absoluto 100%.....	2 min.
Alcohol absoluto 100%.....	2 min.
Aclaramiento	
Xilol.....	3 min.
Xilol.....	3 min.
Xilol.....	3 min.

### **g) Montaje**

Concluido el proceso de tinción de los cortes, se colocaron en condición de protección para poder utilizarlos infinidad de veces para su observación microscópica.

**Procedimiento:**

Consistió en colocar encima del corte coloreado una gota de bálsamo de Canadá y encima se colocó una laminilla cubre objeto y se dejó al medio ambiente para que seque. Luego fue observado al microscopio.

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUCIONES DEL TRABAJO DE INVESTIGACION

### 4.1. Procesamiento, análisis, interpretación y discusión de resultados.

#### 4.1.1. Porcentaje de cicatrización de las heridas con el método del tensiómetro en ratones albinos.

##### Método del tensiómetro:

Se obtuvo una media de 298.23 gr. Necesarios para abrir la piel intacta de los ratones como lo muestra la tabla 13. Y se obtuvo el porcentaje media de cicatrización de cada grupo como lo muestra la tabla 3. Se aplicó la siguiente fórmula para obtener el porcentaje de cicatrización:

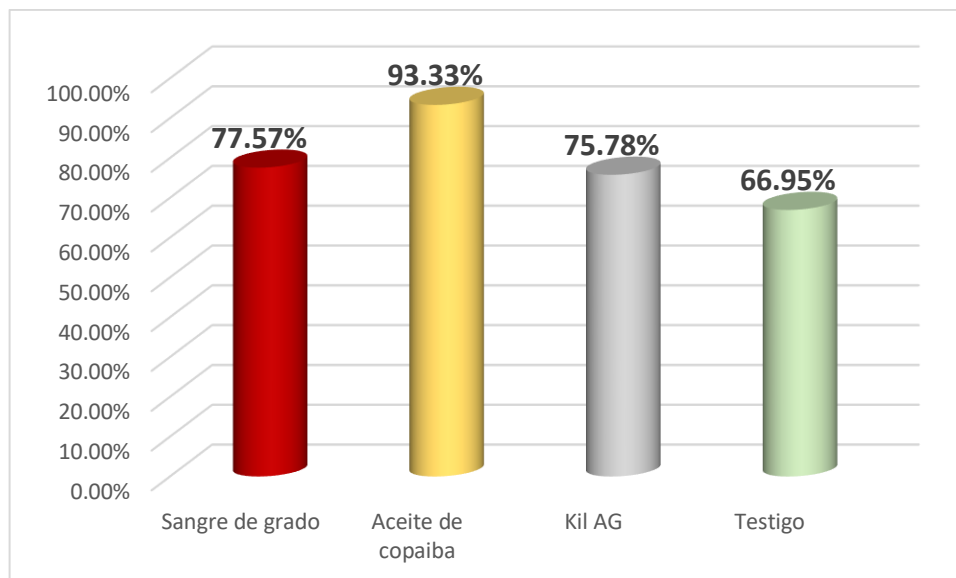
$$\% \text{ de cicatrización} = \frac{\text{gramos necesarios para abrir la cicatriz tratada}}{\text{promedio de gramos necesarios para abrir la piel intacta}} * 100$$

Fuente: (Guillermo et al.,2005) (36).

**Tabla 3.** Porcentaje media de cicatrización.

<b>Sangre de grado</b>	<b>Aceite de copaiba</b>	<b>Kil AG</b>	<b>Testigo</b>
77.57%	93.33%	75.78%	66.95%

Fuente: *Elaboración propia.*



**Figura 2.** Porcentaje media de cicatrización.

### **Interpretación:**

En la tabla 3 y figura 2, se observa el porcentaje media de cicatrización de los tratamientos, obteniendo la media más alta de resistencia para el Aceite de Copaiba (93.33%), seguido de Sangre de Grado (77.57%), Kil AG (75.78%) y el grupo testigo (66.95%).

#### **4.1.2. Respuesta tisular de la piel a los tratamientos de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba), *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado), Kil AG y Testigo en ratones albinos.**

Cada muestra después de haber sido procesadas histológicamente, se realizó la lectura observándose lo siguiente:

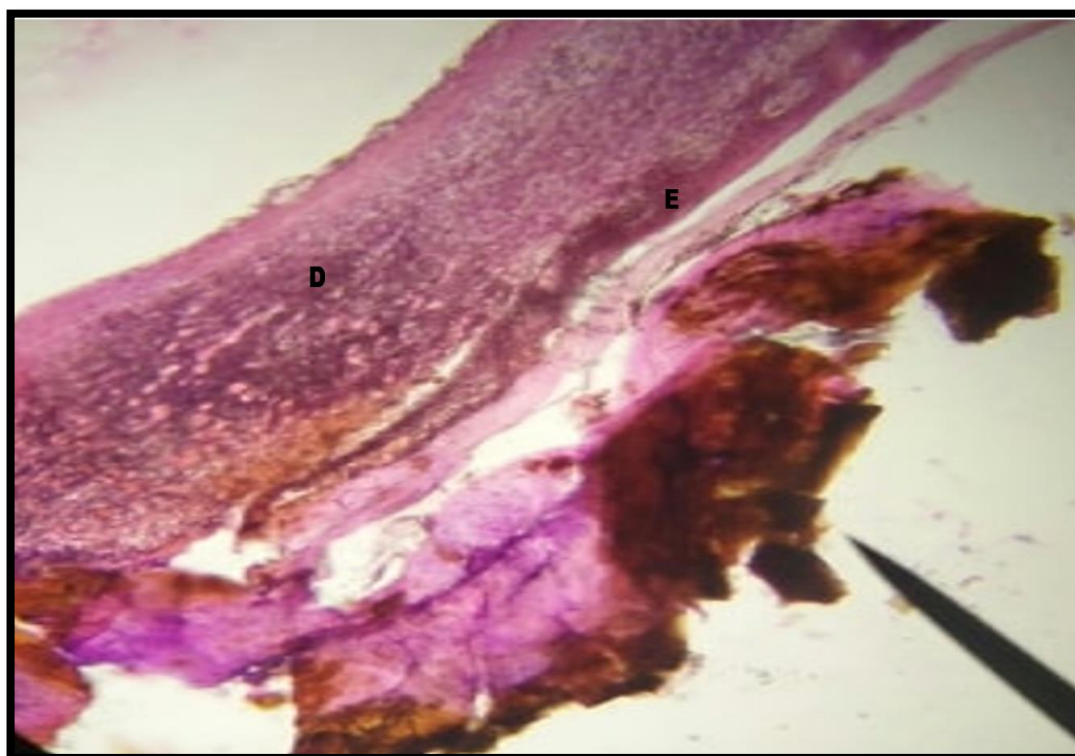
- En el tratamiento con *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de grado) presento una coaptación de los bordes de la herida. El epitelio se presenta delgado en franco proceso de formación. Escaso tejido conectivo laxo en la dermis, además tejido denso en la parte inferior lo que ha favorecido la cicatrización como se observa en la figura 3. Se observa una regular cantidad de fibroblastos que producen fibras colágenas y elásticas. Agullo, J. (2007) (37), indica que conforme avanza la reparación de las heridas disminuye en número de células

endoteliales y de fibroblastos y que estas adquirirían más capacidad de síntesis y depósitos de matriz extracelular lo que hace la reparación total de la herida. Vaisberg et al. (1989) (38), Vanaclocha, B. y S. Cañigüeral (2003) (39), indican que la taspina posee un efecto cicatrizante que promueve las fases tempranas de cicatrización de una herida y su mecanismo se debería a la estimulación de la quimiotaxis de fibroblastos.

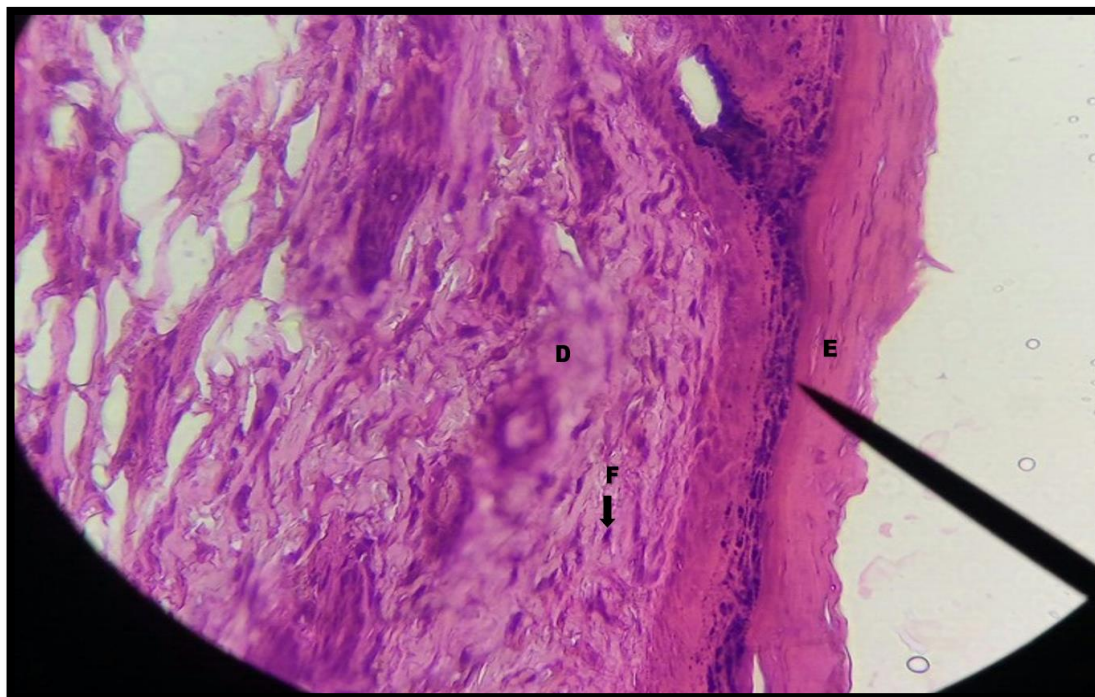
- En cuanto al tratamiento con *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) aceite de Copaiba la coaptación de los bordes de la herida está completamente avanzada y consolidada al encontrarse una completa epitelización y además abundante tejido conectivo denso que hace más compacta la piel en su conjunto, por tal razón a la prueba del tensiómetro este tratamiento fue más resistente a abrir los bordes de la herida. Se aprecia regular cantidad de células fibroblastos que han producido suficiente matriz extracelular que lo tipificaremos como tejido conectivo denso que hace más fuerte a la piel cicatrizada como se observa en la figura 4. Es bien conocido que el diterpeno llamado ácido Kaurénico es uno de los componentes del *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) (40). El grupo kaureno de los diterpenos afectaría la señal inflamatoria inhibiendo factores nucleares como el factor nuclear- Kappa B (FN-KB), regulando la síntesis de varias citoquinas (41). Debido a que la citoquinas y factores de crecimiento regulados por (FN-KB) son necesarios para la curación de heridas no es deseable una regulación descendente completa de FN-kB, sino una disminución evidente en su regulación ascendente. Por lo tanto, aquellos extractos vegetales que disminuyen moderadamente la activación FN-kB pueden contribuir a los procesos de curación y cicatrización de heridas (42). Estos procesos moleculares explican la cicatrización de heridas por parte del Aceite de Copaiba. Además, según estudio el ácido Kaurénico posee actividad antibacteriana (43) (44).



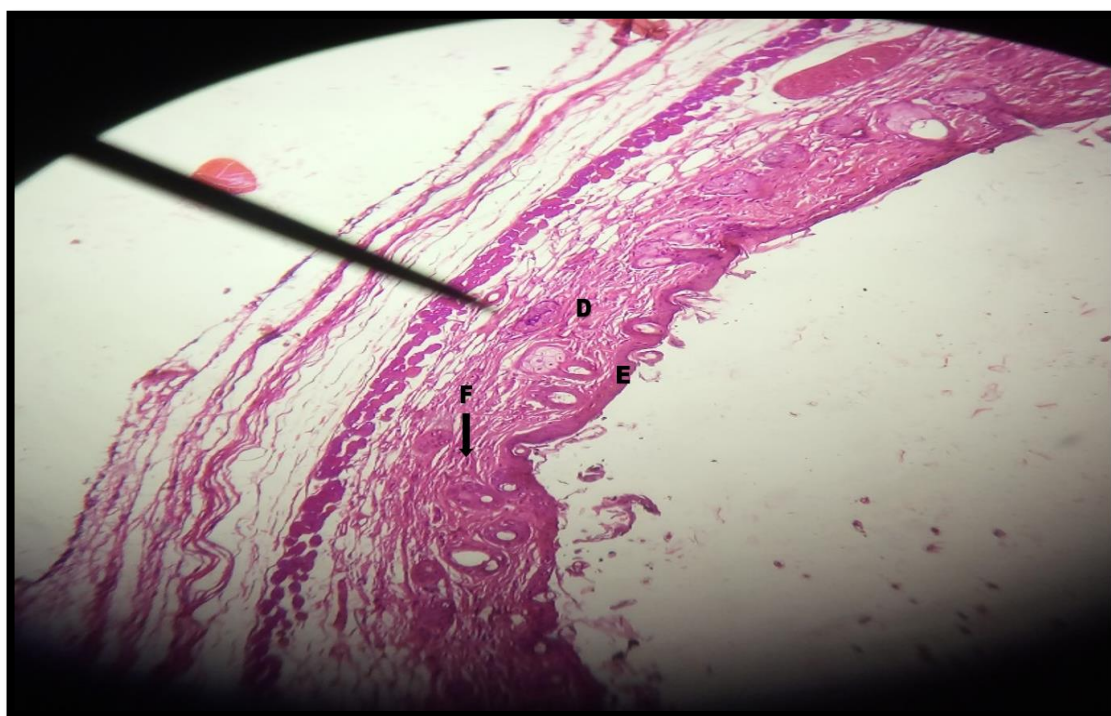
- Los animales tratados con Kil AG Se, observo coaptación de los bordes de la herida en forma consolidada además de la epitelización completa que tipifica que la epidermis está totalmente restablecida. El tejido conectivo laxo presenta abundantes fibras colágenas producido por los fibroblastos. Se aprecia regular cantidad de células fibroblastos como se muestra en la figura 5, pero el tejido conectivo no es tan compacto como del tratamiento con aceite de copaiba.
- En este tratamiento testigo a la observación de la lámina se tiene que el epitelio es de menor grosor que la piel normal. Observamos abundantes folículos pilosos que harían que la epidermis este más adherida a la dermis como se muestra en la figura 6 y 7.



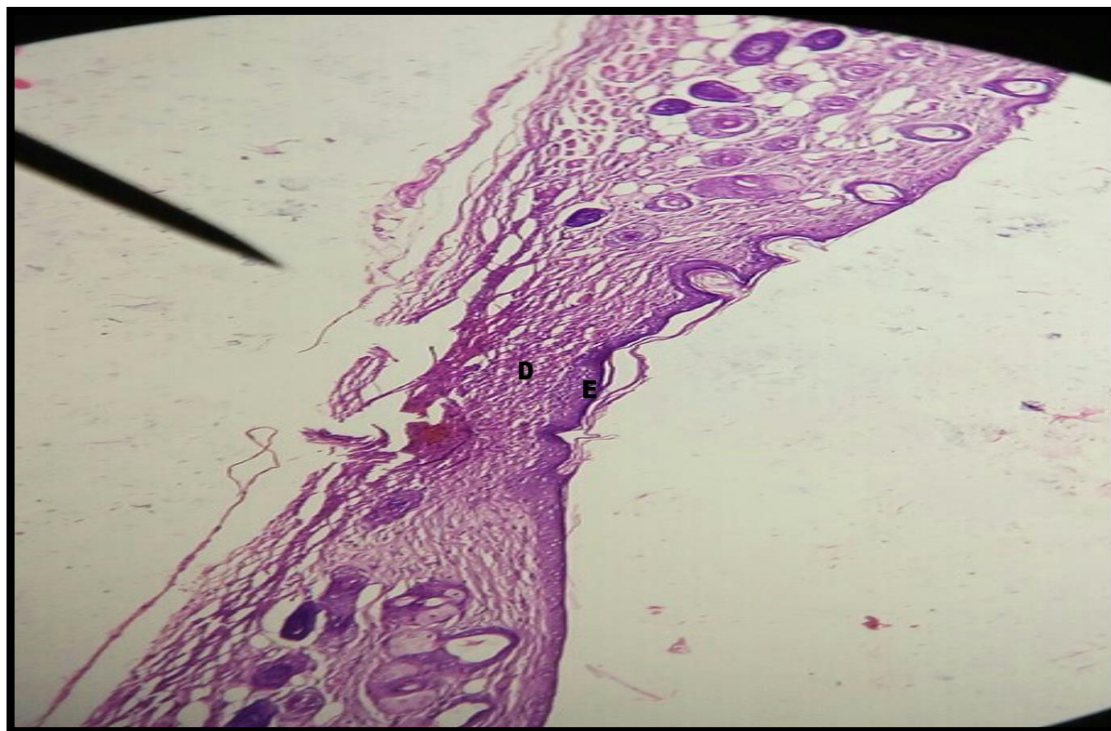
**Figura 3.** Microfotografía de 40X coloración con hematoxilina y eosina. Tratamiento con Sangre de Grado. En la que se observa (E) epidermis y (D) dermis.



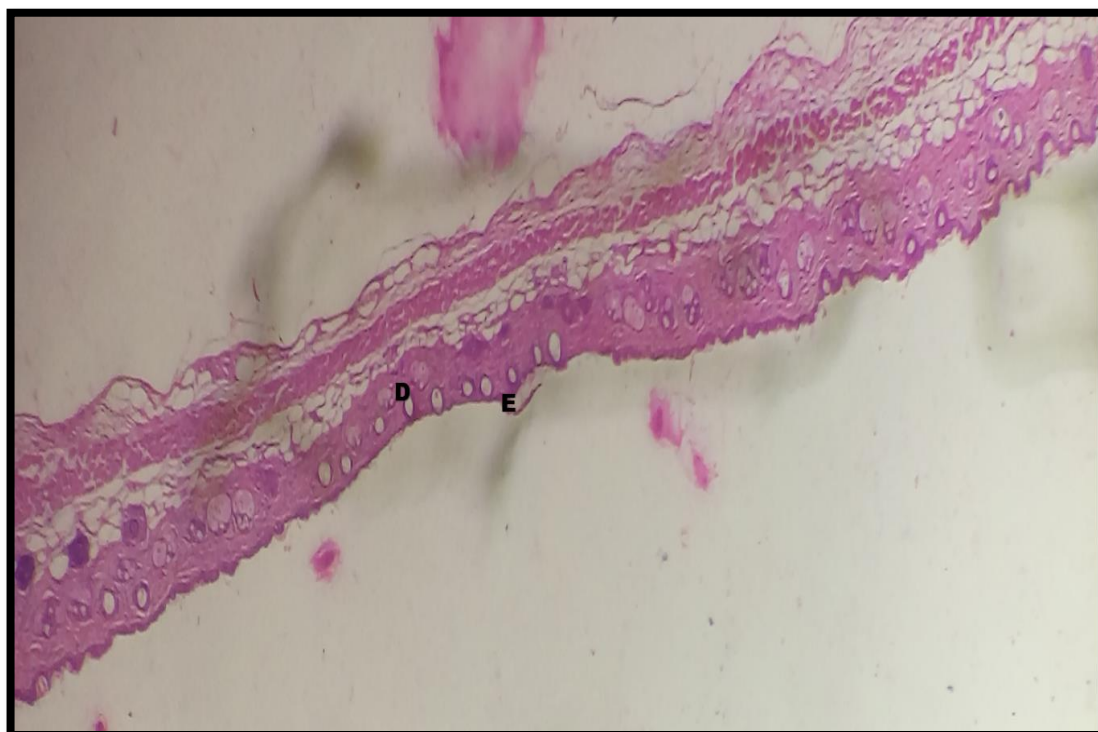
**Figura 4.** Microfotografía de 40X coloración con hematoxilina y eosina. Tratamiento con aceite de copaiba. En la que se observa (E) epidermis, (D) dermis y (F) fibroblastos.



**Figura 5.** Microfotografía de 40 X coloración hematoxilina y eosina. Tratamiento con Kil AG. En la que se observa (E) epidermis, (D) dermis y (F) fibroblastos.



**Figura 6.** Microfotografía de 40X coloración hematoxilina y eosina. Tratamiento testigo. En la que se observa (E) epidermis, (D) dermis.



**Figura 7.** Microfotografía de 40X coloración hematoxilina y eosina. Tratamiento testigo. En la que se observa (E) epidermis y (D) dermis.

## 4.2. Prueba de Hipótesis

### 4.2.1. Hipótesis general

H<sub>1</sub>: El efecto cicatrizante de *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) frente a Kil AG presenta diferencias en lesiones cutáneas de ratones albinos *Mus musculus*.

**Tabla 4.** Estadísticos descriptivos del efecto cicatrizante.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Sangre de grado	6	77.57	0.94	0.38	76.58	78.55	76.45	78.80
Aceite de copaiba	6	93.33	2.27	0.93	90.94	95.71	89.86	95.90
Kil AG	6	75.78	1.47	0.60	74.24	77.33	73.77	78.13
Testigo	6	66.95	1.52	0.62	65.35	68.55	65.39	68.74
Total	24	78.41	9.83	2.01	74.26	82.56	65.39	95.90

Fuente: *Elaboración propia.*

**Tabla 5.** Prueba de homogeneidad de varianzas para la cicatrización.

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,528	3	20	,238

Fuente: *Elaboración propia.*

En la **tabla 5** se observa que el p-v es igual a 0,238 mayor (0.05) nivel de significancia lo que demuestra que los datos de los tratamientos tienen varianzas homogéneas.

**Tabla 6.** ANOVA para porcentaje media de cicatrización de los tratamientos.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2168,800	3	722,933	274,729	,000
Dentro de grupos	52,629	20	2,631		
Total	2221,428	23			

Fuente: *Elaboración propia.*

Como el p valor es igual a 0.000 menor al 0.05 (nivel de significancia) podemos afirmar que el modelo es pertinente.

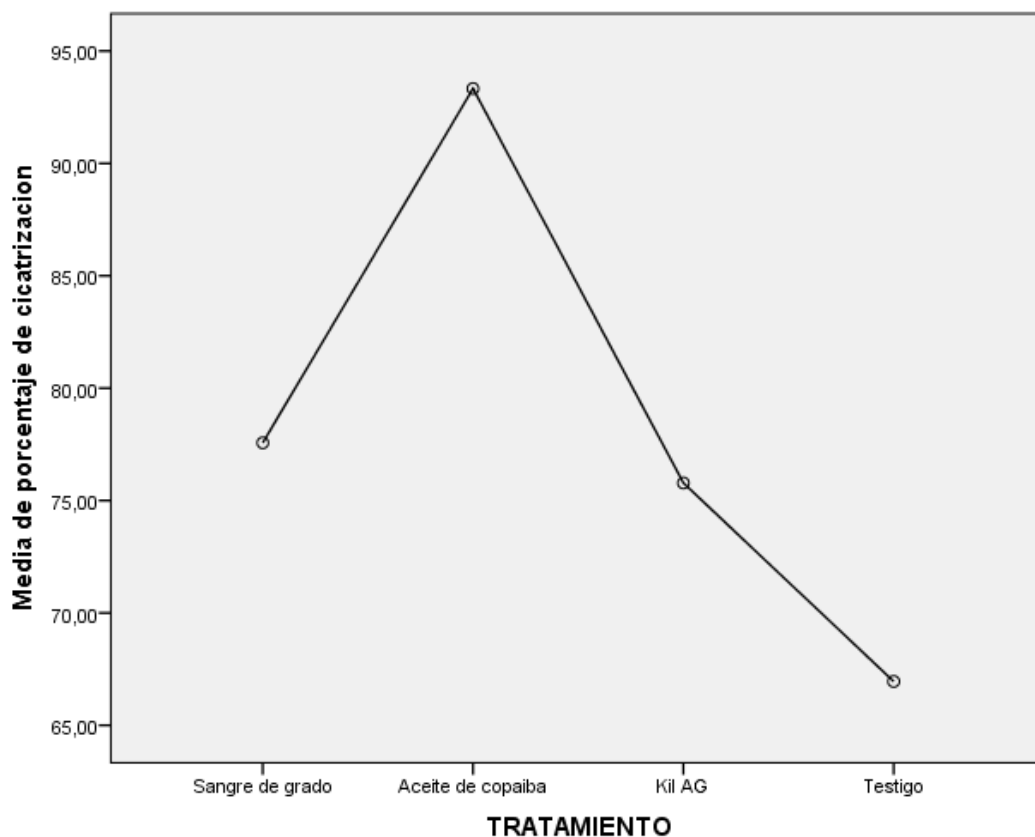
**Tabla 7.** Comparaciones múltiples para el porcentaje de cicatrización - T de Dunnett (bilateral).

(I) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
				Límite inferior	Límite superior
Sangre de grado Testigo	10,61667*	.937	.000	8.24	13.00
Aceite de copaiba Testigo	26,37667*	.937	.000	24.00	28.76
Kil AG Testigo	8,83000*	.937	.000	6.45	11.21

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

**tabla 7.** Se observa las comparaciones múltiples para la media porcentaje de cicatrización según dunnett. El p valor obtenido para cada tratamiento es inferior al 0.05 (nivel de significancia) demostrando que la media porcentaje de cicatrización de los tratamientos es superior al grupo testigo.



**Figura 8.** Medias de porcentaje de cicatrización.

**Discusión:** Se ha demostrado que los tratamientos, *Croton lechleri* Muell. Arg. (Sangre de Grado), *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y Kil AG son significativamente mayores al grupo testigo. Resultados que guardan relación con varios estudios en el cual se comparó cicatrizantes naturales que indican que los resultados del grupo testigo es menor a los demás tratamientos o grupos (6) (45).

#### 4.2.2. Hipótesis específicas

H1. El porcentaje de cicatrización de cada tratamiento presentan diferencias significativas.

**Tabla 8.** Descriptivo de los tratamientos Sangre de Grado, Aceite de Copaiba y Kil AG.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Sangre de grado	6	77,5683	,94007	,38378	76,5818	78,5549	76,45	78,80
Aceite de copaiba	6	93,3283	2,27135	,92727	90,9447	95,7120	89,86	95,90
Kil AG	6	75,7817	1,47064	,60039	74,2383	77,3250	73,77	78,13
Total	18	82,2261	8,26025	1,94696	78,1184	86,3338	73,77	95,90

Fuente: *Elaboración propia.*

**Tabla 9.** Prueba de homogeneidad de varianzas para la media porcentajes de cicatrización de los tratamientos Sangre de Grado, Aceite de Copaiba y Kil AG.

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
2,079	2	15	,160

Fuente: *Elaboración propia*

**Tabla 9.** Se observa que el p-v es igual a 0.160 mayor (0.05) nivel de significancia lo que demuestra que los datos de los tratamientos (Sangre de grado, Aceite de Copaiba, kil AG) tienen varianzas homogéneas.

**Tabla 10.** ANOVA para la media porcentaje de cicatrización entre tratamiento Sangre de Grado, Aceite de Copaiba y Kil AG.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1118,911	2	559,455	204,541	,000
Dentro de grupos	41,028	15	2,735		
Total	1159,938	17			

Fuente: *Elaboración propia.*

Como el p valor es igual a 0.000 menor al 0.05 (nivel de significancia), lo que indica que rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna demostrando que la media porcentaje de cicatrización de los tratamientos presentan diferencias significativas. Al 95% de confianza. HSD Tukey<sup>a</sup>

**Tabla 11.** Tabla de comparación múltiple de la media porcentaje de cicatrización - HSD Tukey<sup>a</sup>.

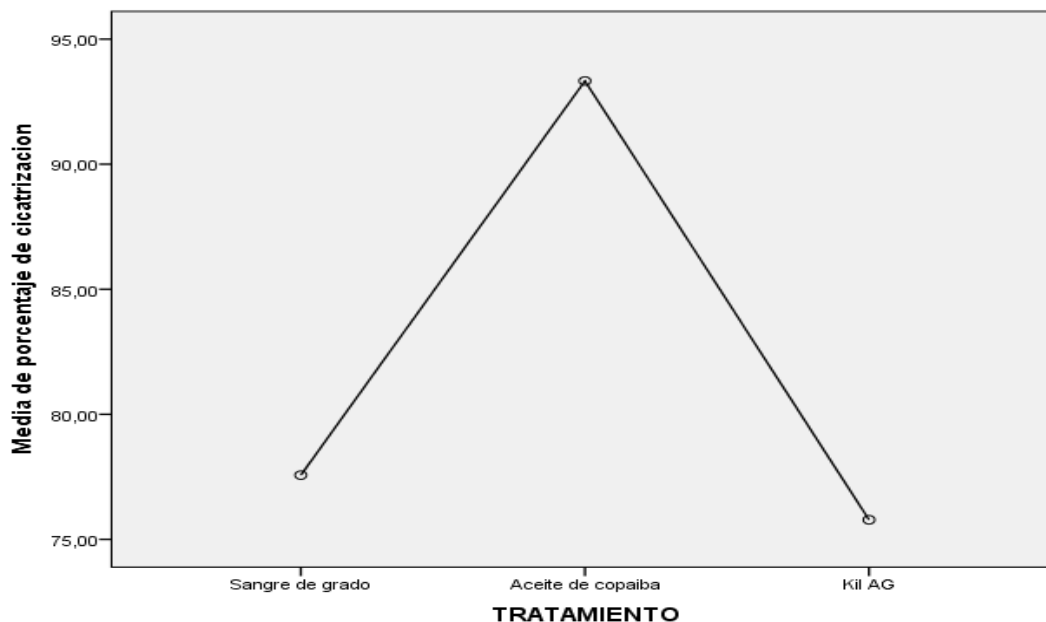
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Kil AG	6	75,7817	
Sangre de grado	6	77,5683	
Aceite de copaiba	6		93,3283
Sig.		,181	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

**Interpretación:** Al realizar la comparación entre tratamientos en la tabla 11 se observa dos subgrupos significativos idénticos, el primer grupo conformado por el tratamiento Sangre de Grado y Kil AG, el segundo grupo lo conforma el Aceite de Copaiba que es significativamente distinto.





**Figura 9.** Media de porcentaje de cicatrización entre el tratamiento Aceite de Copaiba, Sangre de Grado y Kil AG.

**Discusión:** Se ha demostrado que los tratamientos, *Croton lechleri* Muell. Arg. (Sangre de Grado) y Kil AG son significativamente idénticos en cuanto al porcentaje media de cicatrización. El tratamiento *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de copaiba) es significativamente distinto y superior a los demás tratamientos, resultado que nos indica que es el tratamiento más eficiente.

Gallardo y Barboza (2015) (6). En su investigación "Efecto cicatrizante del gel elaborado del latex de *croton lechleri* "sangre de Drago" obtuvieron mayor efecto cicatrizante con el gel al 2% de látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago" comparado con el control positivo Cicatricure® (producto comercial).

Chanca Coquil A. (2014) (46). En su investigación "Efecto comparativo cicatrizante de *Copaifera officinalis*, *Solanun sessiliforum* y *Bixa orellana* L. En lesiones cutáneas de ratones albinos *Mus musculus*.". Obtuvo 12 días promedio de cicatrización para el Achiote (*Bixa Orellana*), 15 días para Cocona (*Salanun Sessiliforum Dunal*) y 17 días para el tratamiento Copaiba (*Copaifera officinalis*), siendo el Achiote la medicina natural más efectiva y la menos efectiva el aceite de Copaiba.

## CONCLUSIONES

La media del porcentaje de cicatrización de los tratamientos *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba), *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de grado) y kil AG son significativamente superior al grupo testigo como lo muestra la tabla 7. Rechazamos la Hipótesis nula y aceptamos la Hipótesis alterna demostrando que el porcentaje media de cicatrización de los tratamientos presentan diferencias significativas, al 95% de confianza. Como lo muestra la tabla 10.

Según la prueba de sub - conjuntos de grupos de Tukey (Tabla 11) para los tratamientos *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de grado) y kil AG, sus medias son estadísticamente iguales, por lo tanto, no existe diferencia significativa entre ellos. Con respecto al tratamiento *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) se deduce que es la de mayor rendimiento, por lo tanto, podemos dilucidar que el tratamiento *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) es la que mejor efecto cicatrizante presento siendo el más eficiente.

Los estudios histológicos se observaron que las pieles tratadas presentan una coaptación completa de los bordes de las heridas. El tratamiento con Aceite de Copaiba presento abundante tejido conectivo denso que hace más fuerte a la piel cicatrizada es por ello que el porcentaje media de cicatrización fue significativamente diferente y superior a los demás tratamientos. El tratamiento con Sangre de grado y Kil AG, se observó coaptación de los bordes de la herida, se observa la epidermis totalmente restablecida, pero el tejido conectivo no es tan compacto como el del tratamiento con Aceite de Copaiba. Corroborando los resultados del método tensiómetro.

## SUGERENCIAS

Es importante tomar en cuenta los datos obtenidos en este estudio para su utilización de los productos naturales Sangre de grado y Aceite de Copaiba para el tratamiento de las heridas en nuestros pacientes, ya que posee propiedades cicatrizante, antiinflamatoria y bactericida.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio se recomienda realizar investigaciones de dosificación y concentraciones terapéuticas del látex de Sangre de grado y Aceite de Copaiba para una mejor aplicación. También realizar investigaciones con toma de muestras histológicas de piel con intervalo de 2 a 3 días hasta la cicatrización de las heridas, con el fin de tener una mejor observación detallada del proceso de cicatrización de los tejidos cutáneos.

Es importante realizar más investigaciones fitoterapéuticas para la industrialización de estos productos naturales y su aplicación en Medicina Veterinaria, ya que en Madre de Dios tenemos una gran biodiversidad de flora medicinal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Mejia K, Renjifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. segunda edicion ed. Uldemolins E, editor. Lima: AGENCIA ESPAÑOLA DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL (AECI); 2000.
2. Li Kun & Diao Y. Tannin extracts from immature fruits of Terminalia chebula Fructus Restz. Promote cutaneous wound healing in rats. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2011 Octubre; 4(3)(1-2).
3. Adam J, Singer MD, Richard AF, al. e. Cutaneous wound healing. The New Journal of Medicine. 1999 September; 34(738-746).
4. Ohsaki ea. The isolation and in vivo potent antitumor activity of clerodane diterpenoid from de oleoresin of the Brazilian medicinal plant, Copaiba. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 1994 Diciembre; 4(2889-2892).
5. Jones K. Review of Sangre de Drago (Croton lechleri)-A South American Tree Sap in the Treatment of Diarrhea, Inflammation, Insect Bites, Viral Infections, and Wounds: Traditional Uses to Clinical Research. The Journal Of Alternative And Complementary Medicine. 2004 enero; 9(877-896).
6. Gallardo G, Barboza L. Rev Cient Cienc Med [internet]. [Online].; 2015 [cited 2018 Agosto 23. Available from: [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttex&pid=s1817-74332015000100003&Ing=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttex&pid=s1817-74332015000100003&Ing=es).
7. Arroyo ea. Efecto citoprotector y antiseoretor del aceite de Copaifera officinalis en lesiones gástricas inducidas en ratas. Anales de la Facultad de Medicina. 2009 Junio; 70(2)(89-96).
8. ABDO S, GUAMAN M, FLORES L. COMPARACION DEL EFECTO CICATRIZANTE DE EXTRACTOS (caesalpinia spinosa) Y SANGRE DE DRAGO (Croton lechleri) EN HERIDAS DE CASTRACIO DE LECHONES (Sus scrofa). Sistema de Información Científica Redalyc. 2014; 21 (1)(S109).
9. Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Revista Medica de Chile. 2010 Octubre; 138 (10)(1288-1293).
10. Cruz J. Mas de 100 plantas medicinales. primera ed. Canarias LOSdICd, editor. Canaria: Las palmas de gran canaria; 2007.
11. Brako L&ZJ. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Columbia: Missouri Botanical Garden; 1993.

12. Veiga V, Pinto A. EL Genero *Copaifera* L. *Quimica Nova*. 2002 Mayo; 25(2, 273- 286).
13. Pennington R, Pennington T, Reynel C, Flores C, Daza A. *Arboles útiles de la Amazonía peruana: un manual con apuntes de identificación, ecología y propagación de las especies Educativa TG*, editor. Lima; 2003.
14. Vasquez T. Relación entre el fenotipo y características del suelo con la producción y productividad de oleoresina de "*Copaiba*" (*copaifera* spp.), en la región de Madre de Dios. *Revista científica UNAMAD*. 2009.
15. Gonçalves AL, Alves Filho A, Menezes H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arq. Inst. Biol*. 2005 Setiembre; 73(3).
16. FA P, Mussi M, Fiorini J, Schneedorf J. Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaiba (*copaifera officinalis*) sobre bacterias formadoras de placa dental em caes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2010 Junio; 62(3).
17. Arroyo J, Quino M, Martínez J, Almora Y, Alba A, Condorhuamán M. Efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera officinalis* (*copaiba*), en pacientes con úlcera péptica. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2011 Junio; 72(2).
18. Ramirez G. *Sangre de Grado*. *Natura Mecatrix*. 2003; 21(4).
19. S.A. B. Laboratorio Brouwer. [Online]. [cited 2019 Noviembre 24]. Available from: <http://brouwer.com.ar/animales-de-compania/>.
20. König H, Liebich H. *Anatomía de los animales domésticos*. Vol 2: Órganos, sistema circulatorio y sistema nervioso. segunda ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005.
21. Sisson S, Grossman JD. *Anatomía de los animales domésticos*, 1a parte. quinta ed. Barcelona: Elsevier; 1982.
22. Castellanos G, Rodriguez G, Iregui C. Estructura histología normal de la piel del perro (estado del arte). *Revista de Medicina Veterinaria*. 2005 diciembre;(10).
23. Perez H. *Fisiología Animal II*. primera ed. Managua: Universidad Nacional Agraria; 2013.
24. Fogel F, Manzuc P. *Dermatología canina para la práctica clínica diaria* Buenos Aires: Intermedica S.A.; 2009.
25. Paterson S. *Manual de enfermedades de la piel en perros y gatos*. segunda ed. Buenos Aires: Intermedica; 2009.
26. Fossum T. *Small Animal Surgery*. Tercera ed. Barcelona: Elsevier; 2007.
27. Cruz J. Principios básicos del manejo de las heridas. *Vet.Zootec*. 2008 Abril; 2(1).
28. Fundacion JM. *Wound Closure Manual*: ETHICON; 2008.

29. Trott A. Heridas y Cortes: Tratamiento y Sutura de Urgencia. Tercera ed. Zaragoza: Elseviermosby; 2002.
30. Hernandez S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. *biomedicina*. 2006; 2(3).
31. Navarro J, Ramirez R, Villagran C. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS RECOMENDABLES PARA LA INVESTIGACIÓN CON ANIMALES. primera ed. Mexico: Samsara; 1012.
32. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón Lima: Instituto Nacional de Salud; 2008.
33. BRUNETON J. Farmacognosia: Fitoquímica. segunda ed. España: Acibia; 2001.
34. Romero W, Batista Z, De Lucca M, Ruano A, García M, Rivera M, et al. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2016; 33(2).
35. Howes E, Joseph S, Samuel H. The healing of wound as determined by their tensile strength. *JAMA*. 1929; 92(1).
36. Guillermo F, Bonilla P, Arroyo J. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Ratus norvegicus*. *Folia Dermatológica Peruana*. 2005 Abril; 16(1).
37. Agullo, J. "Estudio experimental de la cicatrización en la artroplastia de resección de la cadera. [Tesis doctoral]. Barcelona: Medicina y cirugía Universidad de Barcelona; 2007.
38. Vaisberg AJ, Milla M, Planas MC, Córdova JL, de Agusti ER, Ferreyra R, Mustiga MC, Carlin L, Hammond GB. Taspine is the cicatrizant principle in Sangre de Grado extracte from *Croton lechleri*. *Planta Med*. 1989 Apr;55(2):140-3.
39. Vanaclocha, B. y S. Cañigüeral. *Vademecum de fitoterapia*. Barcelona: Masson 4ta edición pág. 448-449.
40. Paiva LAF, Gurgel LA, Silva RM, Tome AR, Gramosa NV, Silveira ER, Santos FA, Rao VSN. Antiinflammatory effect of kaurenoic acid, a diterpene from *Copaifera langsdorfii* on acetic acid-induced colitis in rats. *Vascular Pharmacol*. 2002;39:303–7.
41. Haas AF, Wong JW, Iwahashi CK, Halliwell B, Cross CE, Davis PA. Redox regulation of wound healing? NF- $\kappa$ B activation in cultured human keratinocytes upon wounding and the effect of low energy HeNe irradiation. *Free Radical Biol Med*. 1998;25(9):998- 1005.
42. Schmidt C, Fronza M, Goettert M, Geller F, Luik S, Flores EMM, Bittencourt CF. Biological studies on Brazilian plants used in wound healing. *J Ethnopharmacol*. 2009;122(3):523-32.
43. Van Vuuren SF. Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2008;119:462–72.

- 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 Medica*. 2002;68:808–12.
44. Quispe Crisóstomo N. & Blacido Paucar S. actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de los tubérculos de *Ullucus tuberosus* Caldas “Olluco” en animales de experimentación. [Tesis pre grado]. Lima: Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Wiener; 2018.
45. Chanca Coquil A. Efecto comparativo cicatrizante de *Copaifera officinalis*, *Solanun sessiliforum* y *Bixa orellana* L. En lesiones cutáneas de ratones albinos *Mus musculus*. [Tesis pregrado]. Huancayo: Carrera profesional de Medicina Veterinaria, Universidad Peruana los Andes; 2014.
- 46.

## ANEXOS

## Anexo 1: Matriz de consistencia lógica.

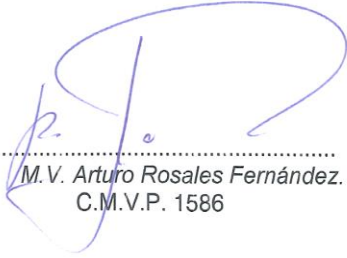
TÍTULO: "Comparación del efecto cicatrizante de <i>Copaifera paupera</i> (Hersog) Dwyer (Aceite de Copaiba), <i>Croton lechleri</i> Müell. Arg. (Sangre de Grado) y Kil AG en heridas inducidas en el lomo de ratones de laboratorio, en Puerto Maldonado – Perú"					
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES E INDICADORES	POBLACION Y MUESTRA	METODOLOGIA
<p><b>PROBLEMA GENERAL</b></p> <p>¿Cuál será la eficacia cicatrizante entre <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y <i>Croton lechleri</i> Müell Arg. (Sangre de Grado) frente a Kil AG, en lesiones de piel en ratones albinos?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b></p> <p>Evaluar el efecto cicatrizante de: <i>Copaifera paupera</i>. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y <i>Croton lechleri</i> Müell. Arg. (Sangre de Grado), frente a Kil AG en lesiones de la piel en ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECIFICOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar el porcentaje de cicatrización mediante el método del tensiómetro, de cicatrices de heridas de 1cm de longitud producidas en el lomo de ratón albino <i>Mus musculus</i>.</li> <li>• Evaluar la respuesta tisular en el tejido cutáneo de ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</li> </ul>	<p>Ha</p> <p>El efecto cicatrizante de <i>Copaifera paupera</i>. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y <i>Croton lechleri</i> Müell. Arg. (Sangre de Grado) frente a Kil AG presenta diferencias en lesiones cutáneas de ratones albinos <i>Mus musculus</i>.</p> <p>H0</p> <p>El efecto cicatrizante de <i>Copaifera paupera</i>. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y <i>Croton lechleri</i> Müell. Arg. (Sangre de Grado) frente a Kil AG no presenta diferencias en lesiones cutáneas de ratones albino <i>Mus musculus</i>.</p>	<p><b>VARIABLE</b></p> <p>a) Variables independientes:</p> <p>X1 = Aceite de copaiba (<i>Copaifera spp.</i>). X2 = Sangre de grado (<i>Croton lechleri</i>). X3 = Kil AG</p> <p>b) Variables dependientes:</p> <p>Y1= porcentaje de cicatrización Y2= Reacción tisular.</p>	<p>Para el presente trabajo se utilizó un total de 60 ratones los mismos que serán distribuidos al azar en cinco grupos.</p> <p>El grupo de ratones de piel intacta al cual no se le realizó ninguna incisión ni se aplicó ningún tratamiento, fueron utilizados para obtener el promedio de gramos necesarios para abrir la piel intacta, que es un dato que se necesitó en la fórmula matemática para obtener el porcentaje de cicatrización de cada grupo de tratamiento.</p>	<p><b>TIPO DE INVESTIGACIÓN</b></p> <p>Experimental siendo prospectivo y analítico, ya que uniformizaremos nuestra población y estudiaremos la comparación del efecto cicatrizante y la reacción tisular al poder cicatrizante de nuestros tratamientos de estudio.</p> <p><b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b></p> <p>Diseño completamente aleatorizado</p> <p><b>Método Estadístico</b></p> <p>Prueba de T de Dunnett. Prueba de Tukey al 5%</p>



**Anexo 2.** Boleta de venta de ratones *Mus musculus*, alimento balanceado para ratones y viruta de madera estéril.

		<b>MINISTERIO DE SALUD</b> <b>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD</b> Av. Defensores del Morro N° 2268 - Lima - Lima - Chorrillos Telf: 748-1111 - Anexo 1550 / 1397		<b>R.U.C. 20131263130</b> <b>BOLETA DE VENTA</b> <b>ELECTRONICA</b> <b>B002 - 0002335</b>	
<b>Señor(es) :</b> PACAYA VALLES JULIANA JACKELINE				<b>Fecha :</b> 28/08/2019	
<b>Direccion :</b> GONZALES PRADA 7-1-03 TAMBOPATA MADRE DE DIOS - TAMBOPATA					
CANT	CODIGO	DESCRIPCION	P.UNITARIO	IMPORTE	
70.00	10404030405	RATONES ALBINO ( 25 GR. A MAS)	407.22	407.22	
5.00	10404030406	Alimento Balanceado para Ratones x 1 kilo	18.76	18.76	
5.00	10404030408	VIRUTA DE MADERA ESTÉRIL X 1 KILO	18.05	18.05	
<b>INSTITUTO DE SALUD</b> <b>28 AGO 2019</b> <b>CANCELADO</b>					
SON: CUATROCIENTOS CUARENTA Y CUATRO Y 03 / 100 SOLES					
<i>Representación impresa de Boleta de Venta Electrónica</i>				<b>TOTAL</b>	444.03
					

**Anexo 3.** Certificación de los ratones albinos *Mus musculus Balb C*.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO			
CERTIFICADO SANITARIO N°		213- 2019	
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M-35-2019
Especie	: <i>Mus musculus</i>	Cantidad	: 70
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 2 meses ½
Peso	: Mayor a 25 g.	Sexo	: Hembra
Guía de remisión	: 0037929	Destino	: Pacaya Valles, Juliana
Chorrillos	: 28 - 08 - 2019		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo <b>Rosales Fernández</b>. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias * .</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>			
Chorrillos, 28 de agosto del 2019			
(Fecha de emisión del certificado)			
<b>NOTA:</b> El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 ..... M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586	

#### Anexo 4. Identificación taxonómica de especímenes vegetales.

**"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"**  
**"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"**

### **CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN** **TAXONÓMICA DE ESPECIMENES VEGETALES**

El que suscribe, **Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, Especialista Forestal en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR.

**CERTIFICA**, que los especímenes (02) presentados por el Señor: **BACHILLER ROLFI YUBER HUAMAN SUAREZ**, de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria-Zootecnia, de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios; para su identificación y/o determinación, para efectos del proyecto de tesis de investigación de tesis intitulada: "COMPARACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (**ACEITE DE COPAIBA**), *Croton lechleri* Müell. Arg. (**SANGRE DE GRADO**) Y KII AG EN HERIDAS INDUCIDAS EN EL LOMO DE RATONES DE LABORATORIO, EN PUERTO MALDONADO - PERU". Corresponden a los siguientes taxa aceptados oficialmente a nivel internacional:

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE VERNACULAR	FAMILIA
<i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer	"Aceite de Copaiba"	FABACEAE
<i>Croton lechleri</i> Müell. Arg.	"Sangra de Grado"	EUPHORBIACEAE

De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Madre de Dios; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), al APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group, 2016) y en el Taxonomic Name Resolution Service v3.2 (2019). Se expide el presente certificado a solicitud del interesado para los fines que considere conveniente. Se anexa al presente Certificado de Identificación los datos correspondientes a la especie en formato Excel.

Puerto Maldonado, 23 de Octubre de 2019.

**Dr. Hugo Dueñas Linares**  
 ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN  
 TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE  
 Código LIC-ES-2017-009

Jr. José Carlos Mariátegui N° 226 Parque Huerto Familiar, Puerto Maldonado-Madre de Dios-Perú  
 Email: [huduli\\_hugo@yahoo.es](mailto:huduli_hugo@yahoo.es) Cel: 956-740299

1

Anexo 5. Certificación de identificación taxonómica de especímenes vegetales.

IDENTIFICACION TAXONOMICA DE ESPECIMENES VEGETALES  
OCTUBRE , 2019

COMPARACION DEL EFECTO CICATRIZANTE DE *Copaifera paupera* (Herzog)Dwyer (Aceite de Copaiba), *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de Grado) Y HERIDAS INDUCIDAS EN EL LOMO DE RATONES DE LABORATORIO, EN PUERTO MALDONADO-PERU"

Señor BACHILLER: ROLFI YUBER HUAMAN SUAREZ  
Universidad Amazonica de Madre de Dios  
Facultad de Ingeniera  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria - Zootecnia

Nº	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA	HABITO	HABITAT	LOCALIDAD	Colector	Fecha Coll	ID	FECHA ID
1	<i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer	"Aceite de Copaiba"	FABACEAE	Arbol	Bosque de terraza alta	Provincia de Tambopata Km 21 IIAP	RYHS	16/08/2019	HDL	23/10/2019
2	<i>Croton lechleri</i> Müell. Arg.	"Sangre de Grado"	EUPHORBIACEAE	Arbol	Bosque de terraza alta	Provincia de Tambopata Km 21 IIAP	RYHS	16/08/2019	HDL	23/10/2019

Referencias:

Vouchers colección RYHS, 16/08/2019  
Vouchers Herbario San Marcos (HSM). 2019  
Vouchers Herbario MOL, 2019  
APG IV. 2016  
Voucher Herbario "Alwyn Gentry"  
Taxonomic Resolution Service v3.2. 2019  
The Plant List, 2019  
Tropicos, Missouri Botanical Garden, 2019

Puerto Maldonado, 23 de Octubre de 2019

Dr. Hugo Dueñas Linares

Especialista en ID Taxonómica de Flora Silvestre  
RD N° 054-2017-SERFOR/DGSGPFFS-DGSPF  
Código Licencia LC-EC-2017-009

Dr. Hugo Dueñas Linares  
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN  
TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE  
Código LIC-ES-2017-009

**Tabla 12.** Datos de pesos de ratones *Mus musculus Balb c.*

TRATAMIENTO	NUMERO	PESO (gr)
Piel intacta	1	31
	2	31
	3	34
	4	30
	5	27
	6	25
	7	33
	8	33
	9	29
	10	27
	11	28
	12	27
Testigo	1	27
	2	33
	3	33
	4	24
	5	30
	6	30
	7	29
	8	35
	9	26
	10	29
	11	27
	12	29
Sangre de grado ( <i>Crotón lechleri</i> )	1	28
	2	27
	3	29
	4	31
	5	33
	6	31
	7	31
	8	32
	9	31
	10	31
	11	30
	12	28
Aceite de copaiba ( <i>Copaifera spp</i> )	1	33
	2	25
	3	30
	4	28
	5	32
	6	28
	7	26
	8	29
	9	29
	10	29
	11	26
	12	25
Kil AG	1	30
	2	37
	3	32
	4	27
	5	33
	6	31
	7	30
	8	32
	9	34
	10	31
	11	28
	12	33

Fuente: *Elaboración propia.*

**Tabla 13.** Gramos necesarios para abrir la piel intacta.

NUMERO	GRAMOS NECESARIOS PARA ABRIR LA PIEL
1	305.91
2	326.3
3	316.11
4	346.7
5	229.43
6	331.4
7	305.91
8	234.53
9	244.73
10	244.33
11	367.1
12	326.3
<b>Promedio</b>	<b>298.23</b>




Fuente: *Elaboración propia.*

**Tabla 14.** Datos de porcentajes de cicatrización.

TRATAMIENTO	NUMERO	GRAMOS NECESARIO PARA ABRIR LA CICATRIZ (gr)	PORCENTAJE DE CICATRIZACION (%)
Sangre de grado ( <i>Croton Lechleri</i> )	1	232	77.79
	2	228	76.45
	3	234	78.46
	4	235	78.80
	5	230	77.12
	6	229	76.79
Aceite de copaiba ( <i>Copaifera spp</i> )	1	286	95.90
	2	276	92.55
	3	275	92.21
	4	285	95.56
	5	280	93.89
	6	268	89.86
Kil AG	1	220	73.77
	2	226	75.78
	3	227	76.12
	4	233	78.13
	5	223	74.77
	6	227	76.12
Testigo	1	195	65.39
	2	205	68.74
	3	198	66.39
	4	195	65.39
	5	205	68.74
	6	200	67.06

Fuente: *Elaboración propia.*

Anexo 6. Resultados de los exámenes histopatológicos.

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO</b> <b>FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA</b> <b>LABORATORIO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA</b>	
<b>EXAMEN HISTOLOGICO</b>		
<b>SOLICITANTE:</b> Bachiller. Rolfi Yuber Huaman Suarez		
<b>REALIZADO EN:</b> Piel de Ratones <i>Mus musculus Balb C</i>		
<b>TECNICA:</b> Cortes en parafina coloreado con Hematoxilina eosina Veinticuatro laminas.		
<b>FECHA:</b> 02 de octubre del 2019		
<b>Sangre de grado (<i>Crotón lechleri</i>)</b>		
<b>Las láminas 1, 2, 3, 4, 5 y 6:</b> Microfotografía de 250 X coloración con hematoxilina y eosina. Coaptación de los bordes de la herida. Se aprecia regular cantidad de fibroblastos. Escaso tejido conectivo laxo en la dermis, además tejido denso en la parte inferior lo que favoreció la cicatrización		
<b>Aceite de Copaiba ( <i>Copaifera spp</i>)</b>		
<b>Laminas 1, 2, 3, 4, 5 y 6:</b> Microfotografía de 250X coloración con hematoxilina y eosina. Se observa tejido epitelial completo (E) y abundante tejido conectivo denso con fibras colágenas compactas y además se observa una hipodermis con tejido adiposo. Restauración normal de la herida. Se aprecia regular cantidad de células fibroblastos que han producido suficiente matriz extracelular		
<b>Kil AG</b>		
<b>Laminas 1, 3, 4, 5 y 6:</b> Microfotografía 250X coloración hematoxilina y eosina. Se observa epitelio estratificado plano queratinizado compacto (E) tejido conectivo laxo con abundante fibra colágenas (C) producida por los fibroblastos. Se observa normal proceso de restauración de la herida. Se aprecia regular cantidad de células fibroblastos.		
 Médico Veterinario y Zootecnista C. 40 11 1005		



**Testigo**

**Laminas 1, 2, 3, 4, 5 y 6:** Microfotografía 250X coloración hematoxilina y eosina. El tejido conectivo debajo del epitelio es de tipo laxo y hacia la hipodermis es denso y se observa tejido adiposo. La epidermis es de menor grosor que en la piel normal.

**DICTAMEN**

Como una apreciación integral de la observación histológica se puede deducir lo siguiente:

1. En el grupo de ratones albinos tratados con aceite de Copaiba (*Copaifera spp*) la coaptación del epitelio es completa. La dermis presenta abundante tejido conectivo denso que lo hace mas compacta la piel en su conjunto a diferencia de los demás tratamientos.
2. Todos los tratamientos presentan coaptación completa de la epidermis, pero el tratamiento testigo la epidermis es de menor grosor que la piel normal.
3. Se observa regular cantidad de fibroblastos en todos los tratamientos debido a que el proceso de cicatrización esta avanzada.

  
Carlos P. García Durán  
Médico Veterinario y Zootecnista  
C.M.V.P. 1718

**Anexo 7.** Panel fotográfico de la ejecución de la investigación**Figura 10.** Aclimatización de los ratones *Mus musculus Balb C*.**Figura 11.** Confort de las jaulas.



**Figura 12.** Pesaje de los ratones.



**Figura 13.** Materiales para la incisión de piel.



**Figura 14.** Afeitado de piel.



**Figura 15.** Corte de piel.



**Figura 16.** Cicatrizantes.



**Figura 17.** Aplicación de Sangre de Grado.



**Figura 18.** Aplicación de Aceite de Copaiba.



**Figura 19.** Aplicación de Kil AG.



**Figura 20.** Eutanasia de los ratones.



**Figura 21.** Método tensiómetro.



**Figura 22.** Toma de muestra de piel.



**Figura 23.** Muestra de piel.





**Figura 24.** Lavado de muestras.



**Figura 25.** Deshidratación de muestras.



**Figura 26.** Fijación en parafina.



**Figura 27.** Taco de parafina.



**Figura 28.** Micrótopo.



**Figura 29.** Extendido del corte.



**Figura 30.** Coloración Hematoxilina y Eosina.



**Figura 31.** Montaje.