

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



EFFECTO DE UNA CREMA ELABORADA CON EL MUCILAGO DEL CLADODIO DEL NOPAL “tuna” (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) EN LA CICATRIZACION DE HERIDAS EN COBAYOS (*Cavia porcellus*) AYACUCHO - 2014.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO

PRESENTADO POR:

MAXIMILIANO GÓMEZ LLALLAHUI

AYACUCHO - PERÚ

2016

DEDICATORIA

A mis padres quienes me
apoyaron todo el tiempo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por ser el *Alma Mater* de mi formación Profesional.

A la Facultad de Ciencias Agrarias, a los docentes de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, quienes me brindaron sus conocimientos y experiencias durante mi formación profesional.

A mi asesora M.V. Gloria Betti Adrianzen Facundo y por el apoyo del Mg. Q.F. Enrique Javier Aguilar Felices por orientarme y colaborar durante la ejecución y culminación del presente trabajo.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
I. REVISIÓN DE LITERATURA	4
1.1. Antecedentes	4
1.2. <i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill	5
1.2.1. Origen y evolución	5
1.2.2. Clasificación taxonómica	6
1.2.3. Descripción botánica	7
1.2.4. Composición química	7
1.2.5. Revisión de avances en la investigación	9
1.3. Herida	10
1.3.1. Clasificación de las heridas	10
1.4. Fisiología de la cicatrización	11
1.4.1. Tipos de cicatrización	12
1.4.2. Estudio de cicatrización	13
1.4.3. Fases de la cicatrización	14
1.4.4. Metabolitos secundarios cicatrización	23
II. MATERIALES Y MÉTODOS	25

2.1.	Ubicación del trabajo de investigación	25
2.2.	Metodología	25
2.3.	Diseño metodológico	26
2.4.	Diseño experimental	29
III.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
IV.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
	ANEXOS	46

RESUMEN

Este estudio, tuvo como objetivo, determinar el efecto de una crema elaborada con el mucilago del cladodio del nopal “tuna” (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.). En la cicatrización de heridas en cobayos (*Cavia porcellus*). La investigación, se realizó en el Laboratorio de Microbiología e Inmunología Veterinaria de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y el Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se empleó el modelo propuesto por Montón del año 2006. Para esta prueba se utilizaron 16 cobayos de raza Perú, machos de 480 a 500 g de peso distribuidos aleatoriamente en cuatro tratamientos: Aplicándose primero el control (agua destilada), segundo; el estándar (Dermaclin plus®), tercero; la crema de mucilago al 2.5% y el cuarto; la crema de mucilago al 5%. Se realizó una herida circular en la región dorsal de un centímetro cuadrado de diámetro, en la cual midió el área de la herida con AutoCAD2015, a partir de imágenes digitales. Las imágenes digitales fueron tomadas cada 48 horas, hasta los 12 días. Se administró tópicamente la crema cada 24 horas. Los promedios del efecto cicatrizante hasta el día 12 de tratamiento, fue mejor con la crema al 5% disminuyendo el área de la herida (0.26 mm²), seguido de la crema 2.5% (0.45 mm²), Dermaclín plus® (0.99 mm²) y el blanco (5.42 mm²). Respectivamente los porcentajes del efecto cicatrizante a los 12 días, fueron, con la crema 5% (99.80%), seguida de la crema 2.5% (99.70%), Dermaclín plus® (99.42%). En la prueba de Dunnett ($p > 0,05$) nos

permitió observar que a concentraciones del 2.5% (99.70%), 5% (99.80%) y Dermaclin plus® (99.42%), estadísticamente no fueron significativos. Se concluye que el mucilago de cladodio de Nopal, presenta efecto cicatrizante

Palabras clave: Efecto cicatrizante, *Opuntia ficus indica* (L) Mill.

INTRODUCCIÒN

Desde el momento en que el hombre domesticó a los animales, su relación para con ellos dejó de ser algo más que la simple subsistencia alimenticia. Una firme alianza, muchas veces defensiva ofensiva, debió contemplar un cuidado mutuo. En garantía de este vínculo, el hombre aportó a través de su raciocinio el dominio de un arte y ciencia, ni más ni menos que la veterinaria, la capacidad de curar las enfermedades de su socio.

El hombre desde tiempos inmemoriales ha conocido y aprovechado la actividad curativa de una infinidad de hierbas. A pesar de los avances en la producción de la medicina “moderna”, las plantas medicinales no han perdido su importancia. Por el contrario, el desarrollo de los medicamentos modernos ha sido resultado de formas cada vez más complejas de aprovechar las plantas medicinales, y su producción sigue

dependiendo en gran parte del uso de estas plantas como materia prima (Hoogesteger, 1994)

Desde épocas precolombinas existen reportes, mencionando que en México los cladodios de *Opuntia ficus indica* (L) han sido utilizados por su actividad cicatrizante (Guevara, 2009).

En medicina natural, el *Opuntia ficus indica* (L) son considerados astringentes y, las palas frescas, calentadas al horno, se utilizan como emolientes, colocados en forma de cataplasma sobre la zona afectada (Font, 1980).

Por ser una planta que se encuentra en la zona y basado en los antecedentes investigados, que es una planta regeneradora de epitelios y por sus componentes fitoquímicos que presenta en su análisis, tuve la inquietud de realizar este trabajo en cobayos, realizando heridas en la piel y aplicando concentraciones caseras y comerciales, sobre ella para ver el efecto cicatrizante y el tiempo de cicatrización de la herida y por lo mencionado, identifiqué los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Determinar el efecto de una crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, en la cicatrización de heridas en cobayos (*Cavia porcellus*).

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto cicatrizante de una crema elaborada con el

mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.)
“tuna”, en concentraciones de 2.5% y 5%.

- Comparar el efecto cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, con el Dermaclin Plus® utilizando la prueba de Dunnett.

I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. ANTECEDENTES

Se realizó un estudio piloto con miel de abeja y solución fisiológica en ratas, mediante el método de análisis de superficie, en el cual cuantificó la cicatrización de las heridas y demostró que la miel de abeja aceleró la cicatrización (Gutiérrez, 2005).

Montón, validó un método de análisis digital de superficie, utilizando como herramienta AutoCAD 2005. Se basa en adquirir imágenes digitales con un sistema de referencia que permite, tras procesarlas en un ordenador personal, calcular áreas, determinar regiones, comparar estructuras, etc (Montón, 2006).

Se demostraron que la valoración de una herida puede llevarse a cabo por medio de un análisis fotográfico empleando técnicas de procesamiento digital y se ha propuesto una metodología no invasiva para el seguimiento del proceso de cicatrización (Isaza y Mosquera, 2009).

Se realizó otro estudio con flavonoides aislados del extracto hidroalcohólico de las flores de *Agave americana* “cabuya” mostrando el mayor efecto cicatrizante, con la concentración de 0.5% y un porcentaje máximo de 67.1% (Prado, 2013).

1.2. *Opuntia ficus indica* (L) Mill.

1.2.1. ORIGEN Y EVOLUCIÓN.

Es una especie vegetal tan antigua como el hombre y ha florecido en las culturas Azteca e Inca; su hábitat natural son las planicies de México y los Andes del Perú, siendo importante que prosperan en zonas desérticas de América.

El aprovechamiento del nopal o tuna en México, se inició en las antiguas civilizaciones mesoamericanas, con la recolección de frutos y flores en poblaciones silvestres, donde algunas tribus establecieron allí sus pueblos (Hernández, 1999).

En el Perú el nopal se aprovecha como especie frutal y también como planta hospedera de la grama o cochinilla. La superficie cultivada para la producción de frutos es de aproximadamente 3400 Ha, de las cuales 3250 se ubica en la sierra y el resto en la costa, siendo solo 600 Ha con riego y el resto seco.

En nuestro país, la tuna ha encontrado su piso ecológico ideal en los Andes de la Sierra, donde desarrolla formando bosques silvestres a lo largo de los valles interandinos, en altitudes que varían entre 1800 a 2800

m.s.n.m. cuyas características son: clima templado, seco y temperatura que oscila entre 14 y 24 °c. Entre estas altitudes se encuentran el territorio de Ayacucho y especialmente las provincias de Huamanga, Huanta, Cangallo y La Mar, siendo este espacio ecológico territorial, donde encontramos el morfotipo *Opuntia ficus indica* (Orellana, 1995).

El 60% de la producción se encuentra en el departamento de Ayacucho, desarrollándose en condiciones silvestres mayormente, tiene como hábitat los valles interandinos y ocupan extensiones enormes de terreno seco, en forma de bosques o como plantas aisladas. También se desarrolla en altitudes mayores o más bajas siendo la principal especie cultivada la especie *Opuntia ficus indica* (Romo, 1986).

1.2.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	: CARYOPHYLLALES
FAMILIA	: CACTACEAE
GÉNERO	: <i>Opuntia</i>
ESPECIE	: <i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.
N.V.	: “tuna”

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga (ANEXO 1).

1.2.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La tuna, pertenece a la familia de las cactáceas. Tiene una parte arbórea que llega a alcanzar dos metros de altura, presenta frutos, flores y tallos denominados cladodios o tallos de nopal constituidos mayormente por fibras celulósicas; desarrolla bien en climas áridos y semiáridos, agrupa a plantas xerofíticas, caracterizados por la escasez de agua, tal adaptación implica mecanismos desarrollados de absorción y máxima capacidad de retención celular de agua para evitar pérdida de agua durante los fenómenos transpiratorios (Figuroa, 1983). El tronco presenta 60 cm de diámetro, uniones verdes oblongas, sin espinas o pocas o sobre algunos artejos de 1-6 areolas (Ibañez y mckes, 1993).

1.2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los frutos de la *Opuntia* son ricos en minerales, fibras y vitaminas. Los azúcares contenidos en los cladodios de la *Opuntia ficus indica* (L) son principalmente glucosa y ácido galacturónico. Se han detectado glucósidos de Kaempferol e isoramnetina. También se ha encontrado cristales de oxalato en gran cantidad (Ginestra, 2009).

El análisis del extracto etanólico de *Opuntia ficus indica* ha permitido identificar dos compuestos alfapirónicos, denominados opuntiosidos II y III (Qiu, 2007).

Estas sustancias tendrían propiedades antioxidantes (Qiu, 2002).

También, han sido identificados dos betasitosteroles (opuntisterol y opuntisteròsido) (Qiu, 2002), junto con otros elementos ya conocidos (beta-sitosterol, taraxerol, friedelin, metillinolèato, 7-oxositosterol, 6-beta-hidroxistigmast-4-ene-3-ona, daucosterol, metileucomato y àcido eucòmico (Jang, 2004). En la *Opuntia ficus indica* se encuentra cantidades considerables de taurina (Stintzing, 1999).

En la planta, se han identificado biotioles y compuestos flavònicos, así como tocoferoles y carotenoides, aunque la parte comestible de la pulpa del cactus no está formalmente considerada una fuente de flavonoides (Tesoriere, 2005).

En total parecen haberse encontrado ocho flavonoides las cuales son: Kaempferol, quercetina, Kaempferol-metil-eter, quercetin-metil-eter, narcisina, aromadendrina, taxifolina eriodictiol, dos terpenoides, corchoionosido y betalainas (entre otros, los pigmentos indicaxantina y betanina) (Lee, 2003).

Tabla 1. Composición química:

Componentes	Porcentaje
Humedad	84.7
Glucosa	7.8
Fructuosa	7.6
Sacarosa	0
Azucares totales	15.4
Vit. C (mg/100g)	31.7

Fuente. Mohamed y Barringer, 1996.

1.2.5. REVISIÓN DE LOS AVANCES EN LA INVESTIGACIONES Y SUS PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS.

El múltiple uso de este vegetal en México, convierte a ésta planta en un producto muy significativo, el uso del tallo como planta medicinal se remonta a las culturas prehispánicas de México y la gran cantidad de evidencias de usos medicinales del nopal hicieron posible que se estableciera el instituto Mexicano de Plantas Medicinales a principios de 1970, donde se empezó a investigar su efecto hipoglucemiantes (Ibáñez y Román, 1979).

Desde épocas precolombinas existen reportes de que en México los cladodios de *Opuntia ficus indica* han sido utilizados por su actividad cicatrizante. La primera preparación tópica formulada con 15% de extractos de cladodio aplicada para curar heridas mostro una rápida generación del tejido, factores como la inhibición de la inflamación, estimulación de la migración de los fibroblastos con la formación acelerada de colágeno y una rápida angiogenesis se cree están relacionados. En particular la aplicación tópica de 2 extractos compuestos de polisacáridos de *Opuntia ficus indica* sobre lesiones en la piel, acelera la reepitalización y la fase de remodelación, a interferir en las interacciones de la matriz celular y modular la colocación laminar (Guevara, 2009).

1.3. HERIDA.

Es la región anatómica donde queda interrumpida la continuidad celular entendiéndose por una solución de continuidad de las cubiertas externas que lo protegen, como es el caso de los tegumentos, las capas de revestimiento mucoso o de la superficie o cápsula fibrosa de los órganos. Dicha lesión tisular es el común denominador de todo trauma y afecta al organismo en diversas formas, incluyendo pérdida local de fluidos, dolor por estímulos neurales y liberación de productos celulares a la circulación (Bradley, 1999).

1.3.1. CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS

A. Según el espesor de los tejidos afectados:

Epidérmicas o arañazos.

Erosión: pérdida de sustancia o desprendimiento de epidermis.

Superficiales: hasta tejido celular subcutáneo.

Profundas, complicadas o complejas: afecta a tejidos más profundos.

Penetrante: a cavidades naturales, habitualmente no comunicadas con el exterior.

Perforantes: afectan a vísceras huecas albergadas en aquellas cavidades.

Por empalamiento: por orificio anal o vaginal (Patiño, 2000).

B. Según la dirección:

Longitudinales, transversales, oblicuas y espiroideas (Patiño, 2000).

C. Según la forma:

Simples, angulares, estrelladas y avulsivas o con colgajos (Patiño, 2000).

D. Según el agente que las provoca:

Incisas: por instrumentos cortantes y se caracterizan por bordes limpios y netos.

Contusas: por instrumentos romos y se caracterizan por bordes irregulares y desflecados (Patiño, 2000).

1.4. FISIOLÓGÍA DE LA CICATRIZACIÓN.

La cicatrización es un proceso dinámico, interactivo en el cual participan mediadores solubles extracelulares, células sanguíneas, células de la matriz tisular, y del parénquima, para facilitar el estudio y comprensión del proceso de reparación de las heridas, se le ha dividido en fases, las cuales ocurren de manera secuencial, pero se superponen en el tiempo: “hemostasia”, “inflamatoria”, “proliferativa” o de “granulación”, de “epitelización” y de “remodelación” (Clark, 1996).



Figura 1. Fisiología de la cicatrización (Ramírez, 2010).

1.4.1. TIPOS DE CICATRIZACIÓN.

Existen 3 maneras de cicatrización según el periodo y en la forma en que ésta ocurra.

- **Cicatrización primaria o por primera intención.**

Es la ideal para cualquier cirujano. Los tejidos cicatrizan por unión primaria, cumpliendo así las siguientes características: mínimo edema, sin secreción local, en un tiempo breve, sin separación de los bordes de la herida y con mínima formación de cicatriz.

- **Cicatrización secundaria o por segunda intención.**

Cuando la herida no se afronta por falta de una atención oportuna o por indicación médica (heridas muy sucias), se lleva a cabo un proceso de cicatrización más prolongado y más complicado. La herida cicatriza desde las capas profundas y desde sus bordes. Habitualmente se forma tejido de granulación que contiene miofibroblastos y la herida cierra por contracción. El proceso de cicatrización es lento y generalmente deja una cicatriz inestética.

Cicatrización terciaria o por tercera intención (cierre primario diferido).

Este es un método seguro de reparación en heridas muy contaminadas o en tejidos muy traumatizados. El cirujano realiza un aseo prolijo de la lesión y difiere el cierre para un periodo que va desde el tercer al séptimo día de producida la herida, de acuerdo a la evolución local, asegurando así un cierre sin complicaciones (Modolin, 1992).

1.4.2. ESTUDIO DE CICATRIZACIÓN.

Una herida es una solución de la continuidad normal de los tejidos. EL hombre, en su evolución filogenética, perdió su capacidad de regenerar miembros o tejidos. Hoy sólo conserva la posibilidad de reparar las lesiones de sus tejidos con un proceso de cicatrización, es decir con un tejido similar, aunque no idéntico. Sin esta capacidad de autorreparación el medio interno saldría al exterior permanentemente, lo cual sería incompatible con la vida. La cicatrización cutánea es un proceso reparativo complejo que conduce a la regeneración del epitelio y el reemplazo de la dermis por un tejido fibroso constituido por colágeno con características diferentes al normal. Las nuevas fibras son más cortas y desorganizadas, por lo que la cicatriz nunca presenta la fuerza tensora de la piel ilesa (Goodman y Gilman, 1996).

Las secuencias en el proceso de cicatrización son:

1. Limpieza del foco traumático y acumulación de material para la reparación (Fase inflamatoria) tenemos la respuesta vascular y los movimientos celulares.

a) La respuesta vascular es la respuesta inmediata en el área afectada, es una vasoconstricción transitoria (de 5 a 10 min) producida en gran parte, por la liberación de tromboxano (una prostaglandina) por las plaquetas para conseguir la hemostasia seguida de una vasodilatación activa.

b) Movimientos celulares, coincidiendo con la vasodilatación y atraídos por mediadores enzimáticos locales, se produce los fenómenos de marginación adherencia y diapédesis de los granulocitos neutrófilos, que son las primeras células que aparecen en el foco traumático. Los leucocitos, atraídos químicamente (quimiotaxis) comienzan la lisis y la acción fagocitaria de los gérmenes contaminantes. Los movimientos celulares en el foco traumático terminan con la aparición del fibroblasto, que se detecta ya en las primeras 24 horas, alcanzando un número muy elevado a las 72 horas.

2. Formación del colágeno y aumento de la resistencia a la separación de los bordes de la herida (fase de reparación). Comienza al tercer día mientras va cediendo el proceso inflamatorio, siendo claramente manifiesto a partir del quinto día.

3. Epitelización de la herida, la producción del colágeno requiere el aporte de aminoácidos y para la cohesión entre las fibras de colágeno, la sustancia fundamental. En las heridas cerradas, la proliferación a partir de los queratinocitos del epitelio se inicia rápidamente y 48 horas ha rellenado el mínimo defecto existente entre ambos bordes, cuando todavía no se ha formado colágeno en el seno de la herida. (Robberrys y Col., 1996).

1.4.3. FASES DE LA CICATRIZACIÓN.

A. Fase I – Hemostasia

Una vez ocurrida la lesión se produce el daño en los vasos sanguíneos con la consiguiente pérdida de plasma, células y factores hacia el

intersticio. La hemostasia y coagulación se inicia con la activación de los elementos celulares de la sangre y lleva a la formación del coágulo o tapón hemostático, proceso en el cual interfiere la cascada de los factores de la coagulación y el fenómeno de agregación plaquetaria. Inicialmente se adhieren las plaquetas al intersticio, donde la trombina y el colágeno fibrilar expuesto las activa, como resultado de esta activación se produce su degranulación, liberando numerosos mediadores: entre ellos fibrinógeno, fibronectina y trombospondina que intervienen en la agregación plaquetaria, el factor VIII, de Von Willebrand que contribuye a la adhesión plaquetaria, actuando como puente de unión entre el colágeno ubendotelial y el receptor plaquetario de integrina $\text{aIIb}\beta 3$ y el Adenosin difosfato y la trombina que atraen más plaquetas a la zona lesionada. Todo esto da lugar a la agregación plaquetaria y a la formación de un tapón hemostático. Las plaquetas también sintetizan factores de crecimiento: el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformador- β (TGF- β) con acción mitógena y quimiotáctica en los fibroblastos, el factor de crecimiento transformador- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimulan la epitelización. La formación de un coagulo producido por la cascada de coagulación que inician los elementos de la sangre y llevan a la formación de trombina, enzima que transforma el fibrinógeno en fibrina que promueve la coagulación además de activar las plaquetas. El fibrinógeno y los receptores de superficie de las plaquetas se unen y se polimerizan para formar una matriz de fibrina, dando lugar a un trombo. El coágulo de

fibrina y la fibronectina proveen una matriz inicial que favorece la migración de monocitos, fibroblastos y queratinocitos además de intervenir en la respuesta inflamatoria por medio de la bradiquinina y las fracciones C3a y C5a del complemento, los cuales aumentan la permeabilidad vascular y promueven la quimiotaxis de neutrófilos y monocitos. En forma simultánea el endotelio produce prostaciclina, que inhibe la agregación, lo cual limita el proceso, la antitrombina III, inhibe la formación de fibrina, la proteína C, inhibe al factor VIII y limita la adhesión y el activador del plasminógeno y la plasmina son relevantes en la lisis del coágulo (Ramírez, 2010).

B. Fase II – Inflamatoria

Esta fase se caracteriza por la migración de neutrófilos a la herida, atraídos por factores quimiotácticos específicos, como el factor estimulador de colonias de granulocitos / macrófagos (GM-CSF), la kalikreína y los fibrinopéptidos, que aumentan la expresión del complejo dimérico CD11/CD18, facilitando la marginación vascular y la posterior diapédesis. Una vez los neutrófilos migran al intersticio, se dan las interacciones “célula - célula” y “célula - matriz” favorecidas por las integrinas iniciando así la función de fagocitosis de bacterias y proteínas de la matriz por medio de liberación de enzimas específicas (hidrolasas, proteasas y lisozimas) y radicales libres de oxígeno. Finalmente, los neutrófilos agotados quedan atrapados en el coágulo y se disecan con él, y los que permanecen en tejido viable mueren por apoptosis y posteriormente son removidos por los macrófagos o fibroblastos.

Posteriormente, se produce el acúmulo de monocitos que reemplazan a los neutrófilos, estimulados por factores quimiotácticos, (fragmentos de colágeno, elastina, fibronectina, trombina enzimáticamente activa, TGF β 1, kalikreína y productos de degradación de la matriz). Los monocitos de los vasos, al migrar al tejido se transforman en macrófagos y se unen a proteínas de la matriz extracelular mediante receptores de integrina, promoviendo la fagocitosis. Así se produce la descontaminación del foco y el desbridamiento autolítico facilitado por la liberación de enzimas como las colagenasas. Las endotoxinas bacterianas también activan la liberación de Interleucina 1 (IL-1) por parte de los macrófagos, que a su vez estimula la liberación de Interleucina (IL-8) que atraerá más neutrófilos, aumentando así la destrucción tisular (Ramírez 2010).

Los macrófagos, una vez unidos a la matriz extracelular, sufren un cambio fenotípico, y pasan de comportarse como células inflamatorias a comportamiento de células reparadoras, que liberan citoquinas y factores de crecimiento (TGF α y β , PDGF, FGF y IGF-1) con un importante papel en la neoformación tisular; siendo los procesos descritos los que permiten la inducción de la angiogénesis y la formación de tejido de granulación, preparando el lecho de la lesión para la siguiente etapa fisiológica (Ramírez, 2010).

C. Fase III – Proliferativa o de granulación

Los fibroblastos constituyen las células más importantes en la producción de matriz dérmica, llegan a la herida desde músculo, tendón, fascia y una vez en el lecho de la lesión, migran con movimientos activos sobre una

matriz laxa de fibronectina, para ello el PDGF hace que exprese receptores de integrina $\alpha 1$ y $\alpha 5$, posibilitando la migración e interacción con los demás factores de crecimiento. La hipoxia en el centro de la herida, favorece la liberación de factores de crecimiento estimulantes de la proliferación de fibroblastos (TGF $\beta 1$, PDGF, FGF, EGF y VEGF). Para movilizarse a través de la matriz de fibrina, se requiere un sistema proteolítico que facilita el desplazamiento celular, compuesto por enzimas derivadas de fibroblastos, proteasas séricas (plasmina y plasminógeno del suero, activador del plasminógeno) y colagenasas (MMP-1 o metaloproteinasa de la matriz; MMP - 2 o gelatinasa y MMP - 3 o estromalisina). El PDGF estimula la liberación de estas proteínas del fibroblasto mientras que el TGF β induce la secreción de inhibidores de las proteinasas, controlando así la degradación de la matriz. Con la migración de fibroblastos estos depositan una neomatriz provisional de fibronectina y ácido hialurónico estimulados por citoquinas y factores de crecimiento (TGF β , PDGF, TNF, FGF , IL1 e IL4) para comenzar a sintetizar la matriz de colágeno (tipos I, III y VI) y una vez que se depositó una suficiente cantidad, cesa la producción, debido a que el INF γ y la misma matriz inhiben la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno. La angiogénesis y la formación de tejido de granulación se inician simultáneamente con la fibroplasia. Los vasos sanguíneos adyacentes a la lesión emiten yemas capilares, en cuyo extremo se encuentran las células endoteliales, que sufren un cambio fenotípico que les permite proyectar pseudópodos a través de las membranas basales

fragmentadas y migrar al espacio perivascular; en ésta proliferación endotelial tiene un papel especial el factor de crecimiento vascular-endotelial (VEGF) y las angiopoyetinas (Ang). La Ang 2 interactúa con un receptor de las células endoteliales (Tie 2), haciéndolas más laxas y disminuyendo el contacto de éstas con la matriz para favorecer la acción del VEGF. El TGF β estimula la síntesis de fibronectina y proteoglicanos para constituir la matriz provisional, y a su vez facilita la migración celular e induce el fenotipo de célula endotelial adecuado para la formación de tubos capilares. La proteína ácida y rica en cisteína de la matriz celular liberada por los fibroblastos y macrófagos, junto a la trombospondina y la tenascina son consideradas proteínas antiadhesivas ya que desestabilizan las interacciones célula - matriz, favoreciendo la angiogénesis. Al mismo tiempo la disminución de la tensión de O₂, estimula a los macrófagos para que produzcan y secreten factores angiogénicos, ayudado también por la migración de las células endoteliales los cuales forman brotes capilares que se dividen en sus extremos y luego se unen formando asas y dan origen a los plexos capilares. Después del cese de los estímulos angiogénicos, los capilares sufren una regresión por múltiples factores, entre los cuales se encuentran la tumefacción mitocondrial en las células endoteliales de los extremos distales de los capilares, la adherencia plaquetaria a las células endoteliales y la ingestión de los capilares necrosados por los macrófagos. Por último se produce el reclutamiento de las células periendotheliales (pericitos y células de músculo liso) que van a estabilizar

los vasos recién formados. Este proceso se realiza por la unión de la Ang 1 al receptor Tie 2, aumentando el contacto de éstas con la matriz. Otros receptores celulares que intervienen son los de integrina, en especial el $\alpha v\beta 3$, esencial para la formación y mantenimiento de los nuevos vasos (Ramírez, 2010).

D. Fase IV – Epitelización

Para que se lleve a cabo la epitelización de la herida, los queratinocitos deben migrar desde los bordes de la herida o desde los anexos remanentes con el fin de restablecer la barrera cutánea, dicha migración se produce gracias a cambios en su fenotipo que consiste en la pérdida del aparato de adhesión gracias a la retracción de los tonofilamentos y disolución de los desmosomas; adquisición del aparato motor por el desarrollo de filamentos de actina y la proyección de los melopodios hacia la herida; y la expresión de citoqueratina 6 y 16, las cuales son marcadores del estado activo; estos procesos conllevan a la pérdida de unión de las células epidérmicas entre sí, a la membrana basal y a la dermis subyacente, permitiendo su migración. Este ciclo de activación del queratinocito comienza con la IL - 1, que lo transforma en célula hiperproliferativa y migratoria, dicha actividad la realiza sobre una matriz rica en fibronectina y mediada por receptores de superficie integrínicos ($\alpha 5 - \beta 1$) y TGF β . Luego la migración será sobre la matriz definitiva rica en colágeno, mediada por receptores de superficie colagénicos ($\alpha 2 - \beta 1$) y la liberación de TGF α / EGF; para que se realice este proceso, en la membrana basal desaparecen la laminina y el colágeno de tipo IV. La

proliferación ocurre en forma superpuesta a la migración, mientras las células epiteliales migran a través de la herida, las células proximales proliferan por el estímulo de mediadores solubles (EGF/TGF α , PDGF/FGF, etc.) y al “efecto borde” (ausencia de células vecinas en aposición que dispararía el estímulo proliferativo en los márgenes de la herida). Para que el queratinocito finalice su proceso de migración y proliferación existen varias señales: el INF γ producido por las células inflamatorias lo estimula a expresar citoqueratina 17, que lo convierte en contráctil y facilita la reorganización de la matriz de la membrana basal provisoria y el TGF β estimula la producción de queratinas K5 y K14 que lo convierten en una célula basal para iniciar nuevamente la diferenciación y la reparación de la membrana basal con el nuevo depósito de laminina, también es una señal que le indica que la herida ya está reparada y no hay necesidad de migrar. De igual forma es importante aclarar que en la piel sana, los queratinocitos no están en contacto con los colágenos de la membrana basal (IV y VII) o de la dermis (I, III y V) que son activadores de la migración y sí lo están con la laminina de la lámina lúcida, la cual inhibe la migración de éstos (Ramírez, 2010).

E. Fase V – Remodelación o de contracción

Es la última etapa, comienza al mismo tiempo que la fibroplasia y continúa por meses. La célula principal es el fibroblasto que produce fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno durante la fase de reparación, los cuales sirven como base para la migración celular y soporte tisular. Con el tiempo la fibronectina y el ácido hialurónico

desaparecen por acción de proteasas y hialuronidasas respectivamente. Posteriormente, el colágeno tipo III es reemplazado por el de tipo I, siendo éste más estable y similar al original. La degradación del primer colágeno se debe a la acción de las metaloproteinasas de la matriz (colagenasas, gelatinasas y estromalinasas), cuya actividad depende de los iones de zinc y que son estimuladas por factores de crecimiento y la matriz extracelular. Como se ha descrito, los fibroblastos sufren una serie de cambios fenotípicos. Primero adoptan un fenotipo migratorio, luego un fenotipo profibrótico (mientras producen colágeno I, III y VI) y posteriormente, adoptan el fenotipo de miofibroblasto, rico en microfilamentos de actina en el lado citoplasmático de la membrana y establece uniones célula - célula (adherentes) y uniones con la matriz extracelular a través de receptores integrínicos, este colágeno neoformado se une a través de enlaces covalentes cruzados con haces del borde de la herida y con haces de la dermis adyacente, estas uniones crean una red a través de la herida y así la tracción que realizan los fibroblastos a la matriz pericelular se puede transmitir dando como resultado una contracción coordinada, estimulada por el TGF β , la angiotensina, las prostaglandinas, la bradiquinina y la endotelina. En el último día de la cicatrización los fibroblastos inician su proceso de apoptosis, estableciéndose una transición de una cicatriz rica en fibroblastos y tejido de granulación, a una cicatriz acelular. Al final del proceso la actividad celular disminuye y el tejido conjuntivo cicatrizal se torna rico en colágeno, pobre en células y vasos, sin folículos pilosos y sin

glándulas sudoríparas ni sebáceas. La dermis recupera la composición previa a la lesión y alcanza una resistencia máxima del 70% comparada con el tejido previo y la reparación de la herida se considera finalizada; en una herida de espesor completo hay reducción del tamaño en un 40% respecto del tamaño original (Ramírez, 2010).

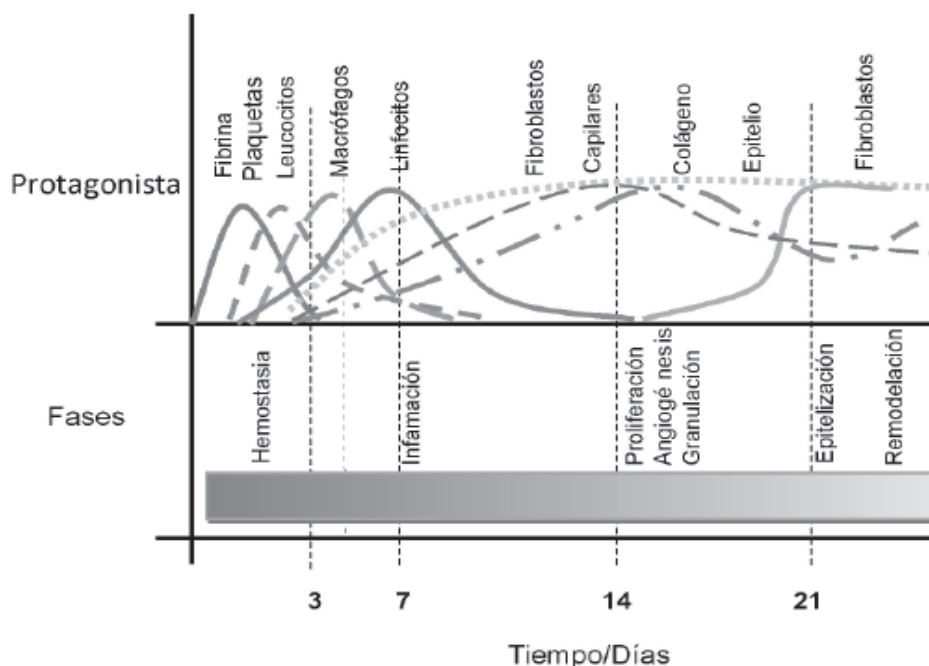


Figura 2. Fases de la cicatrización y su respectivo protagonista (Ramírez, 2010).

1.4.4. METABOLITOS SECUNDARIOS QUE INTERVIENEN EN LA CICATRIZACIÓN.

- Taninos

Son compuestos químicos complejos resultantes de la polimerización de polifenoles, por hidrólisis liberan ácido gálico, que se transforma en pirogalol, ácido pirocatequico. Los taninos son compuestos distribuidos ampliamente en los vegetales, localizándose en hojas, frutos, corteza y tallos. La acción protectora e inhibitoria de las secreciones y exudaciones

hace útiles a los taninos en la curación de heridas, se absorbe fácilmente por la piel, se aprovecha en casos de procesos cutáneos, tales como ulceraciones, escaras y grietas cutáneas (Litter 1996).

Empleos de los taninos:

- Cicatrizantes hemostáticos
- Antidiarreicos
- Antídotos de intoxicaciones por metales pesados y alcaloides
- Antisépticos: bactericidas, bacteriostáticos y antifúngicos
- Antídotos
- Protectores de la pared vascular (Vila, 1988).

- Flavonoides

Los pigmentos flavonoides, son uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuido de constituyentes naturales, se conoce como diez clases de flavonoides. Cada una de las clases suelen encontrarse bajo la forma de glicosidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbono 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa y ramnosa. Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y glicosidos. La acción farmacológica es también extensa y variada, son bien conocidos sus actividades como la fragilidad capilar (bioflavonoides del género Citrus: rutina y derivados) dilatadores de las coronarias, espasmolítico, antihepatotóxica, colerética, estrógena y diurética. Destaca así mismo la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y otros fenoles y la acción fungitóxica de los isoflavonas (Lock, 1988).

II. MATERIALES Y METODOS

2.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Microbiología e Inmunología de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y el Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero hasta agosto del 2016.

2.2. Metodología

2.2.1. Población

La población estuvo constituida por los cladodios del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” recolectadas en la localidad de Huamanga, departamento de Ayacucho.

2.2.2. Muestra

Estuvo constituida por 5 Kg. de cladodios de *Opuntia ficus indica* (L) Mill. “tuna”, recolectados durante el mes de enero del 2016, en la Estación Experimental Agraria “Canaán” del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) Ayacucho ubicado a 2746 m.s.n.m. El tipo de muestreo fue por conveniencia no aleatorizado, tomando en cuenta las plantas en buen estado y estado de madurez.

2.2.3. Unidad experimental

Representada por 16 “cobayos” de raza Perú de un solo sexo (machos, de 480 a 500 gr.). En buenas condiciones de salud, desparasitados (Triverfen®), con alimentación y agua ab libitum.

2.3. Diseño metodológico

2.3.1. Procedimiento para la recolección de la muestra

La planta se recolectó manualmente, las cuales fueron recubiertas en papeles, en las horas de la mañana, en un clima templado, en su buen estado, durante el mes de enero del 2016.

2.3.2. Obtención de la materia seca del mucilago.

Antes de la limpieza inicial del Nopal, se extrae las espinas para proceder al lavado y desinfección con solución de hipoclorito de sodio. El cladodio se colocó encima de papeles para un mayor secado, luego se comenzó a pelar la capa externa del cladodio con un bisturí, ni bien pelado se extrae el mucilago con una cucharilla en un vaso precipitado, obtenido el mucilago este se somete a baño María a una temperatura de 80 grados

centígrados por 50 minutos, finalmente se precipitó con etanol al 96% en una relación de $\frac{1}{4}$. Se dejó reposar por 24 horas, donde luego se lavó por centrifugación a 6500 r.p.m. por 15 minutos, tres veces, para finalmente hacer el secado en una estufa a 50 grados centígrados por 48 horas, obteniéndose así la materia seca del mucilago.

2.3.3. Preparación de las concentraciones

Se utilizó crema base cuya composición es: ácido esteárico, propilenglicol. Se preparó la crema con el extracto seco a concentraciones de 2.5% y 5% con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción de la crema en la zona de la herida.

2.3.4. Determinación del efecto cicatrizante

Fundamento: El método realizado por Montón fue de provocar heridas quirúrgicas en ratas, que a partir de imágenes digitales, medir el área de la herida en (mm^2), con el programa de AutoCAD 2005, (Montón 2006).

Procedimiento:

1. Se depiló la región dorsal de los cobayos con área aproximada de 3 cm^2 .
2. Se pesó y distribuyó aleatoriamente en 4 tratamientos, cada tratamiento con 4 cobayos y se les colocó en jaulas.
3. Se anestesió al animal con pentobarbital sódico "halatal" (1ml/2.5Kg), por vía intraperitoneal
4. Se aplicó pequeñas dosis de lidocaína al 2% vía intradérmica.

5. Luego se desinfectó el área para realizar con una técnica limpia, realizar una herida circular en la región dorsal de un centímetro cuadrado de diámetro, por lo cual se tomó como referencia una plantilla de plástico con las medidas dadas.
6. Se extrajo la piel, específicamente la epidermis, dermis y la hipodermis.
7. A los animales se les administró una cantidad necesaria hasta recubrir la herida cada 24 horas durante los doce días de tratamiento a cada grupo: blanco (agua destilada), control (Dermaclin plus®), 2.5% de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” y 5% de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”.
8. Se colocó al cobayo por debajo del soporte metálico de una cámara digital convencional, a una distancia aproximada de 30 cm.
9. Sobre la herida se colocó una regla que sirve como referencia para hallar la escala.
10. Se obtuvo fotografías de la herida inmediatamente después de realizar la herida, a las 4 horas y luego por cada 48 horas, hasta llegar a los 12 días.
11. La fotografía se transfirió a un disco duro de un ordenador personal, con el programa de AutoCAD 2015.
12. Utilizando las herramientas del programa de AutoCAD 2015 se procedió a la medición del área de las heridas en mm².

2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se preparó cuatro tratamientos experimentales, cada uno con 4 cobayos distribuidos al azar. El primer tratamiento fue el control (blanco) al cual se le administró agua destilada, el segundo tratamiento fue el estándar al cual se administró Dermaclin plus® (polifenoles cuaternarios derivados de bioflavonoides cítricos 1%), al tercer tratamiento se le administró la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” al 2.5%, al cuarto tratamiento se la administró la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” al 5%.

Diseño farmacológico: Completamente al azar

Tabla 2. Diseño experimental

TRATAMIENTOS	BLANCO (Control)	Dermaclin Plus® (Estándar)	Crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (<i>Opuntia ficus indica</i>	
			2.5%	5%
Lote I	X			
Lote II		X		
Lote III			X	
Lote IV				X

2.4.1. Análisis estadístico.

Se tomaron fotografías del área de la herida, que al introducirlas en el programa AutoCAD 2015 se procedió a medir el área de la herida en mm², para luego hallar el porcentaje de actividad cicatrizante, en la cual se usó la siguiente formula:

$$\% \text{ ACTIVIDAD CICATRIZANTE} = \frac{(A_i - A_f)}{A_i} \times 100$$

A_i . = Área inicial

A_f . = Área final

Los resultados se expresaron en cuadros y figuras. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos son evaluados a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones se hacen entre cada tratamiento a través de la Prueba de Dunnett.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente estudio, fué determinar la actividad cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” en cobayos (*Cavia porcellus*), se utilizó el modelo propuesto por Montón, que se basa en adquirir imágenes digitales con un sistema de referencia que permite, tras procesar a un ordenador personal calcular áreas y determinar perímetros de las heridas la cual es muy útil para trabajos de este tipo. Con el modelo utilizado en este trabajo es posible medir la superficie de la herida, a cuyo tamaño se le da un valor numérico en milímetros cuadrados, es posible obtener valores de tendencia central y de dispersión, se pueden comparar grupos de estudio en los que se utilicen en las curaciones diferentes procedimientos o sustancias, es posible saber si la diferencia de los resultados en los distintos grupos es estadísticamente significativa (Gutiérrez, 2005).

El agua destilada (control) es aquella sustancia cuya composición se basa en la unidad de moléculas de H₂O y ha sido purificada o limpiada mediante destilación.

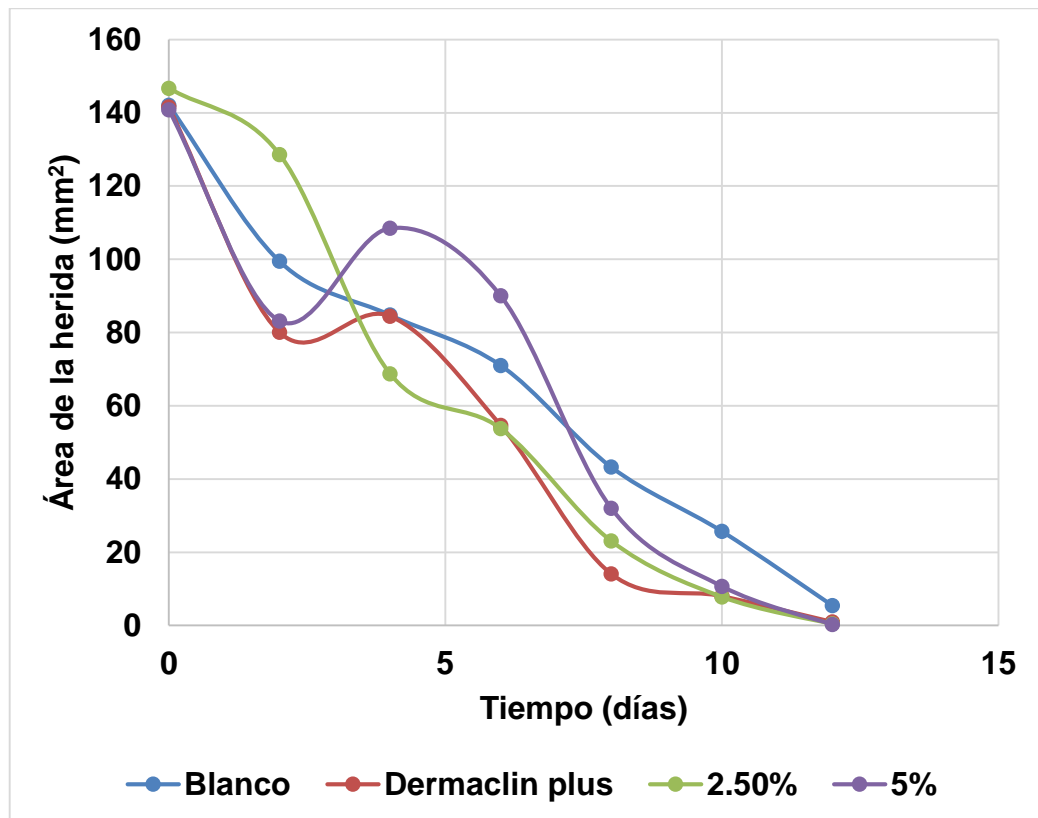


Figura 3. Promedios del área de la herida en función al tiempo.

En la figura 3, se observa, cuando se aplicó el blanco, a los dos días existió disminución del área de la herida y el día seis hubo una disminución lenta del área de la herida, llegando así a los doce días donde la mayoría de este grupo no concluye el cierre definitivo de la herida. La herida puede dejarse abierta para permitir que cicatrice desde las capas profundas hacia la superficie exterior. Se forma tejido de

granulación que contiene miofibroblastos y cierra por contracción. El proceso de cicatrización es lento y habitualmente se forma tejido de granulación y cicatriz (Mas, 2008).

Asimismo, se observó, que con el estándar (Dermaclín plus®) hay una disminución del área de la herida a partir del día cero hasta el segundo día, para luego incrementarse hasta el cuarto día, de aquí para adelante comienza su disminución llegando así hasta los doce días con un valor promedio del área de la herida de (0.99 mm²).

Con respecto a las cremas elaboradas con el mucilago del cladodio del Nopal “tuna”. (2.5% y 5%), la crema al 5% presento mejor desempeño al disminuir el área de la herida, seguido de la crema al 2.5%. Este efecto se debe a los metabolitos secundarios que se encuentran en el mucilago del Nopal (Anexo 13.), podemos mencionar que los flavonoides son importantes para la salud de los vasos sanguíneos. Regulan la permeabilidad del capilar, por eso detienen el flujo de proteínas y células de sangre, pero permiten el flujo de oxígeno, dióxido de carbono y otros nutrientes. Muchos flavonoides incrementan la fortaleza de los vasos capilares, previniéndolos de cerrarse fácilmente. Esto es en parte debido a que ciertos flavonoides tienen una acción similar a la de la vitamina C (Álvarez 2011). Asimismo, también podemos mencionar que la materia seca de mucilago de cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” tiene la propiedad de absorber agua de la herida, para evitar así la contaminación bacteriana y dar un ambiente adecuado para el cierre de la herida.

Cuadros (2013), en un estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto atomizado de las hojas de *Solanum nitidum* “Ñuñunga” en ratas Wistar, reporta que la mayor eficacia se obtuvo a una concentración del 2% (0.33 mm² de promedio a los dieciséis días) en comparación con el mucilago de cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” a una concentración 5% (0.26 mm² de promedio a los doce días), indica que mucilago de cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” a una concentración 5% presentó mayor actividad cicatrizante.

Reportándose en nuestro trabajo que los promedios, a los doce días de tratamiento, la crema 5% (0.26 mm²), difiere significativamente con la crema al 2.5% (0.45 mm²), Dermaclín plus® (0.99 mm²) y el blanco (5.42 mm²).

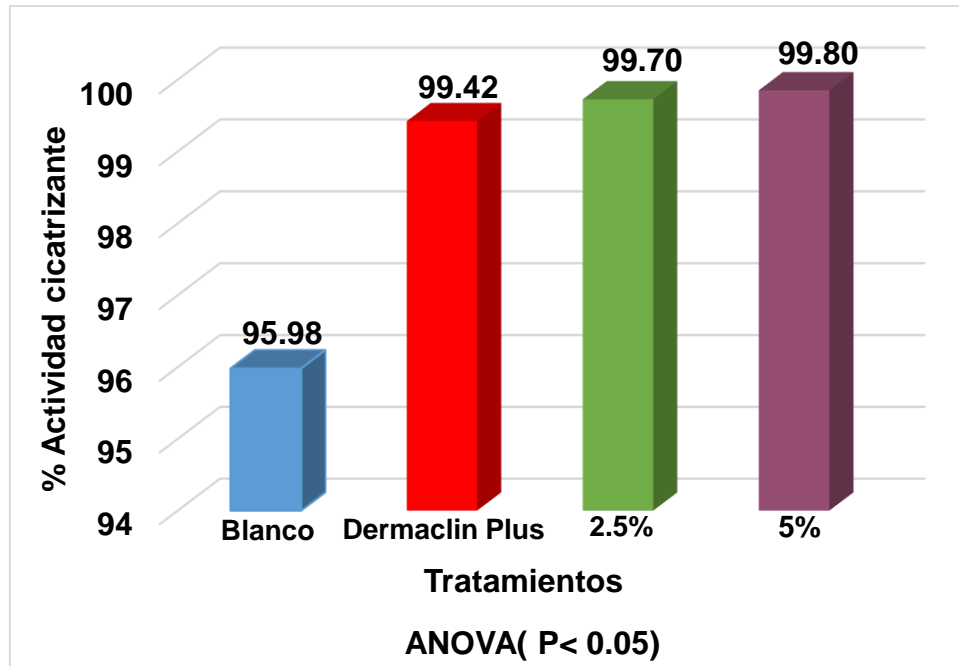


Figura 4. Porcentaje del efecto cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del nopal “tuna” (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.).

En la figura 4, nos permite observar que existe una ligera similitud entre el Dermaclin plus® (99.42%), con las concentraciones del 2.5% (99.70%) y 5% (99.80%), lo que no sucede con el blanco (95.98%) según el análisis de varianza, que se muestra en la tabla 5 (Anexo 15), este análisis, se valida ya que se muestran rangos de variabilidad dispersos demostrando que la mayoría son significativos a un nivel de confianza de 95% (P<0.05), es decir que con las concentraciones ensayadas se obtienen porcentajes de efectos cicatrizante diferentes entre sí.

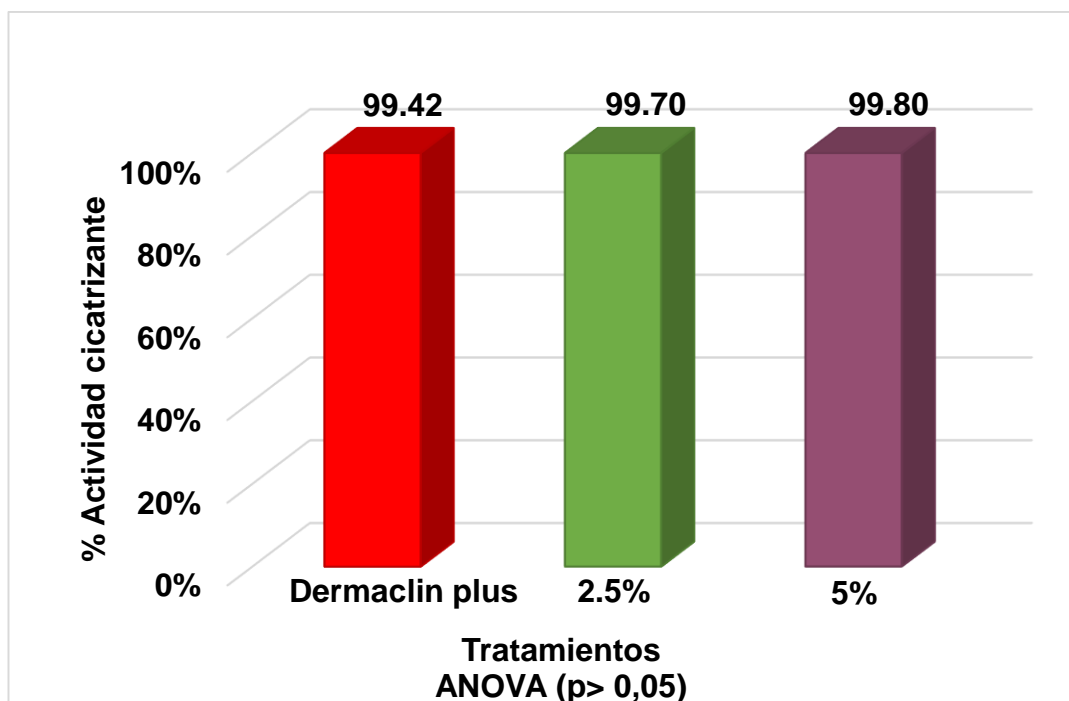


Figura 5. Porcentaje de actividad cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del nopal “tuna” (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.), según prueba de Dunnett.

En la figura 5, representa las comparaciones múltiples de la Prueba de Dunnett, del porcentaje de actividad cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” frente al Dermaclin plus® ($p > 0,05$), que a concentraciones de 5% (99.80%) y 2.5% (99.70%) no mostraron diferencias estadísticas significativas, lo cual queda demostrado en la tabla 6 (Anexo 16) y en la tabla 7 (Anexo 17), la importancia de determinar adecuadamente la concentración a utilizar en un posible tratamiento.

Prado (2013), en un estudio realizado sobre el efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* “cabuya”, en la cual reporta que la mayor eficacia de actividad cicatrizante es de 67.1%, comparado con el trabajo de la crema elaborada del mucilago del cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, en la cicatrización de heridas en cobayos (*Cavia porcellus*), presentó una mayor eficacia de actividad cicatrizante de 90.80%, estos resultados nos indican que la crema a base de mucilago de cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” es mejor como cicatrizante.

Díaz (2007), en el estudio realizado sobre el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas y raíces de *Gamochaeta americana* (Mill.) wedd. “qeto qeto”, obtuvo un 130.94% de eficacia, siendo esta más eficaz que los estudios antes mencionados.

Por las consideraciones arribadas, se logró determinar que la crema de mucilago de Nopal “tuna” tiene efecto cicatrizante.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

i. CONCLUSIONES

1. La crema elaborada con el mucílago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, presentó efecto cicatrizante en heridas inducidas experimentalmente en cobayos (*Cavia porcellus*).
2. La crema elaborada con el mucílago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, a la concentración de 5,0% (99.80%) presentó mejor porcentaje de efecto cicatrizante que a la concentración de 2.5 % (99,70%).
3. La crema elaborada con el mucílago del cladodio del Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, a las concentraciones de 2,5% y de 5,0% no mostraron diferencias estadísticas significativa con la crema de referencia (Dermaclin plus®) ($p>0,05$).

ii. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones del efecto cicatrizante del mucilago de cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, a base de gel a diferentes concentraciones.
2. Proseguir con el estudio del efecto cicatrizante del mucilago de cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”, en otras especies animales a más concentraciones.
3. Realizar estudios de toxicidad dérmica del mucilago de cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Álvarez M. (2011).** Fenoles naturales. Química orgánica II. 2011 Universidad Central del Ecuador. [Acceso 01 de abril de 2013]. Disponible en: [http://q-organicauce.wikispaces.com/file/view/trabajo+taninos+y+flavonoides_Michelle +Alvarez.pdf](http://q-organicauce.wikispaces.com/file/view/trabajo+taninos+y+flavonoides_Michelle+Alvarez.pdf).
2. **Bradley, U. Cullum, N., Nelson, E.A. (1999).** Systematic reviews of wound care management dressings and topical agents used in the healing of chronic wounds. *Health Techn Asses* 3:1-18.
3. **Clark, R.A.F. ed. (1996).** The molecular and cellular biology of wound repair. 2nd ed. New York: Plenum Press 1996.
4. **Cuadros, C. (2013).** Efecto cicatrizante del extracto atomizado de la hojas de *Solanum nitidum* R. P."nununga" en ratas wistar, Ayacucho 2012. Tesis Químico farmacéutico UNSCH.
5. **Díaz, L. (2007),** efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas y raíces de *Gamochaeta americana* (Mill.) wedd. "qeto qeto". Tesis Químico farmacéutico UNSCH.
6. **Figuroa, C. (1983).** "Caracterización de goma de tallos de *Opuntia ficus indica*". Tesis UNAM-Lima-Perù.

7. **Font Quer P. (1980).** Plantas medicinales, el Dioscórides renovado, Editorial Labor, S.A., Barcelona, p. 162
8. **Ginestra, G; Parker, M; Bennett, R; Robertson, J; Mandalari G; Narbad, A. (2009).** Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear (*Opuntia ficus indica*). Mill, J. Agric. Food Chem. Nov.
9. **Guevara, A. (2009).** Efectos bifuncionales de la tuna. Revista de horticultura. México. Edición 1.
10. **Gutiérrez C. (2005).** Modelo para la valoración cuantitativa de la cicatrización. Estudio piloto con miel de abeja. Cirujano general. [revista en internet] [Acceso 15 de octubre de 2012]; 27(2): 114 – 119. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2005/cg052b.pdf>.
11. **Goodman y Gilman. (1996).** Las bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 9na Edición PP. 1371-1387.
12. **Hernández, E. (1999).** Nuevos criterios en la clasificación y diagnósticos de la Diabetes Mellitus Vol. 8, N^a 12 Rev. Atención primaria. Universidad Nacional Autónoma De México. Pág. 125-128.

- 13. Hoogesteger C. (1994).** Uso de plantas medicinales. México: Pax México.
- 14. Ibañes, C; Mckes, R. (1993).** Efectos de un producto semipurificado obtenido de la *Opuntia ficus indica* (Nopal) sobre la glucemia en conejos. Archivo de investigación. México. www.cactus.mall.com/specs/index.html.
- 15. Ibanes, E; Roman, R. (1979).** Efecto hipoglucemiante del nopal. Vol. 12, N^a 16. Rev. Sociedad peruana de cactus y suculentos. Pág. 210-231.
- 16. Isaza C, Mosquera J. (2009).** Modelo para la valoración y predicción cuantitativa de la cicatrización empleando proceso Gaussianos de regresión. Scientia et Technica [revista en internet] 2009. [Acceso 15 de octubre de 2012]; 15(41), Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/849/84916680053.pdf>.
- 17. Jang, D.S., M. Cuendet, A.D. Pawlus, L.B. Kardono, K. Kawanishi, N.R. Farnsworth, H.H. Fong, J.M. Pezzuto and A.D. Kinghorn, (2004).** Potential cancer chemopreventive constituents of the leaves of *Macaranga triloba*. *Phytochemistry*, 65: 345-350.
- 18. Lee, H. (2003).** Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus indica*.

- 19.Litter M. (1996).** Compendio de Farmacología. 4a ed. Buenos Aires – Argentina: El Ateneo.
- 20.Lock de Ugaz O. (1988).** Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios; en capítulo 4 del manual de fitoterapia. Editado por Villar y Villavicencio. Essalud; Organización Panamericana de Salud. Perú. 2012 [Acceso 15 de octubre de 2012]. Disponible en URL: <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manuales MEC/fitoterapia/cap4.pdf>.
- 21.Mas J. (2008).** Ethicon wound closure manual. 2008 [Acceso 4 de marzo de 2013]. Disponible en URL: http://web.intercom.es/jorgemas/Libro_Sutura.pdf.
- 22.Modolin M. (1992).** Biología de la cicatrización de los tejidos. En: Melega J M, Zanini S A, Psillakis J M (eds), Cirugía Plástica, Reparadora y Estética. Río de Janeiro, Medsi.
- 23.Mohamed y.; Barringer, S.A.; Splittstoesser, W.E. (1996).** A note on the uses of Opuntia spp. in Central/North America. Journal of Arid Enviroments 32:347-353.
- 24.Montón J. (2006).** Validación de un nuevo método de análisis digital de superficies. Cirugía plástica Ibero-Latinoamericana. [revista en internet] 2006 [Acceso 14 de octubre de 2012]. 32(2): 71 – 82. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/cpil/v32n2/01.pdf>.

- 25. Orellana, A. (1995).** "Plantas y vegetación de Ica, Perú, un recurso para su restauración y conservación" Edit. Darwin.
- 26. Patiño Restrepo J. (2000).** Lecciones de cirugía. Colombia: Médica Panamericana.
- 27. Prado, H. (2013).** Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* "cabuya". Ayacucho 2013. Tesis Farmacia Bioquímica en la U.N.S.C.H.
- 28. Qiu, Yk; Zhao, YY; Dou, Q. (2007).** "Two new alpha-pyrone and other components from the cladodes of *Opuntia Sp.*" Arch. Pharm. Res. 2007. Pàg 12- 15.
- 29. Qiu, Y; Chen, Y. (2002).** Constituents with radical scavenging effect from *Opuntia sp.* Structures of new alpha-pyrone and flavonol glycoside. Chem Pharm Bull (Tokyo).
- 30. Ramírez G. (2010).** Fisiología de la cicatrización cutánea. Revista facultad de salud. [revista en internet] 2012. [Acceso 5 de noviembre de 2012]; 2(2): 69 – 78. Disponible en: <http://www.revistarfs.com/articulos/9---fisiologia-de-la-cica.pdf>.
- 31. Robbers, J. E.; Speedie, M. K.; Tyler, V. E. (1996).** Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology, Wilkins, W. Ediciones. New- York (1650p).

- 32.Romo, P. (1986).** “Manual de cultivo de la tuna y producción de cochinilla” Lima-Perú.
- 33.Soler, B. (2004).** “Experiencia cubana en el estudio y aplicación de medicamentos herbarios”. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Ciudad de la Habana. Nº 3. Vol. 9 .2010.
- 34.Stintzing, F.C., Schieber, A., Carle, R. (1999).** Amino Acid Composition and Betaxanthin Formation in Fruits from *Opuntia ficus indica*. Planta medica 65: 632-635.
- 35.Tesoriere, L. (2005).** “Biothiols, taurine, and lipid soluble antioxidants in the edible pulp of Sicilian cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial precesissing”.
- 36.Tomas, Ch. (2012).** Estudio químico y fitoquímico de la *Opuntia ficus indica* “tuna’ y elaboración de un alimento funcional. Volumen 15. Revista peruana de química e ingeniería.
- 37.Vila Jato J. (1988).** Tecnología farmacéutica. Vol. 2. España: síntesis.

ANEXOS

ANEXO 1



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA


C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Medicina Veterinaria, **Sr. Maximiliano, GÓMEZ LLALLAHUI**
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.
Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de
Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CACTACEAE
GENERO	:	Opuntia
ESPECIE	:	<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.
N.V.	:	" tuna "

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para
los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 13 de Noviembre del 2015.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Bigá. Laura Aucasime Medina
JEFE

Fotografia1. Certificado de clasificación taxonómica.

ANEXO 2

CERTIFICADO

Que, el bachiller en Medicina Veterinaria, **Maximiliano Gómez LLallahui**, adquirió del Centro Experimental "Pampa del Arco" 16 cobayos machos de la raza Perú (480 – 500 gr), en buenas condiciones sanitarias, para realizar trabajos de investigación con fecha 08 de enero del 2016.

Se expide la presente para fines que el interesado estime por conveniente.

Ayacucho, 08 de enero del 2016.

Atentamente:



M. V. Sabrina S. Florescano Palomino
DOCENTE - UNSCH
Responsable del C.E "Pampa del Arco"

Fotografía 2. Certificado sanitario del material biológico.

ANEXO 3



Figura 6. Recolección de los cladodios de (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” en la Estación Experimental Agraria “Canaán”, del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) Ayacucho.

ANEXO 4

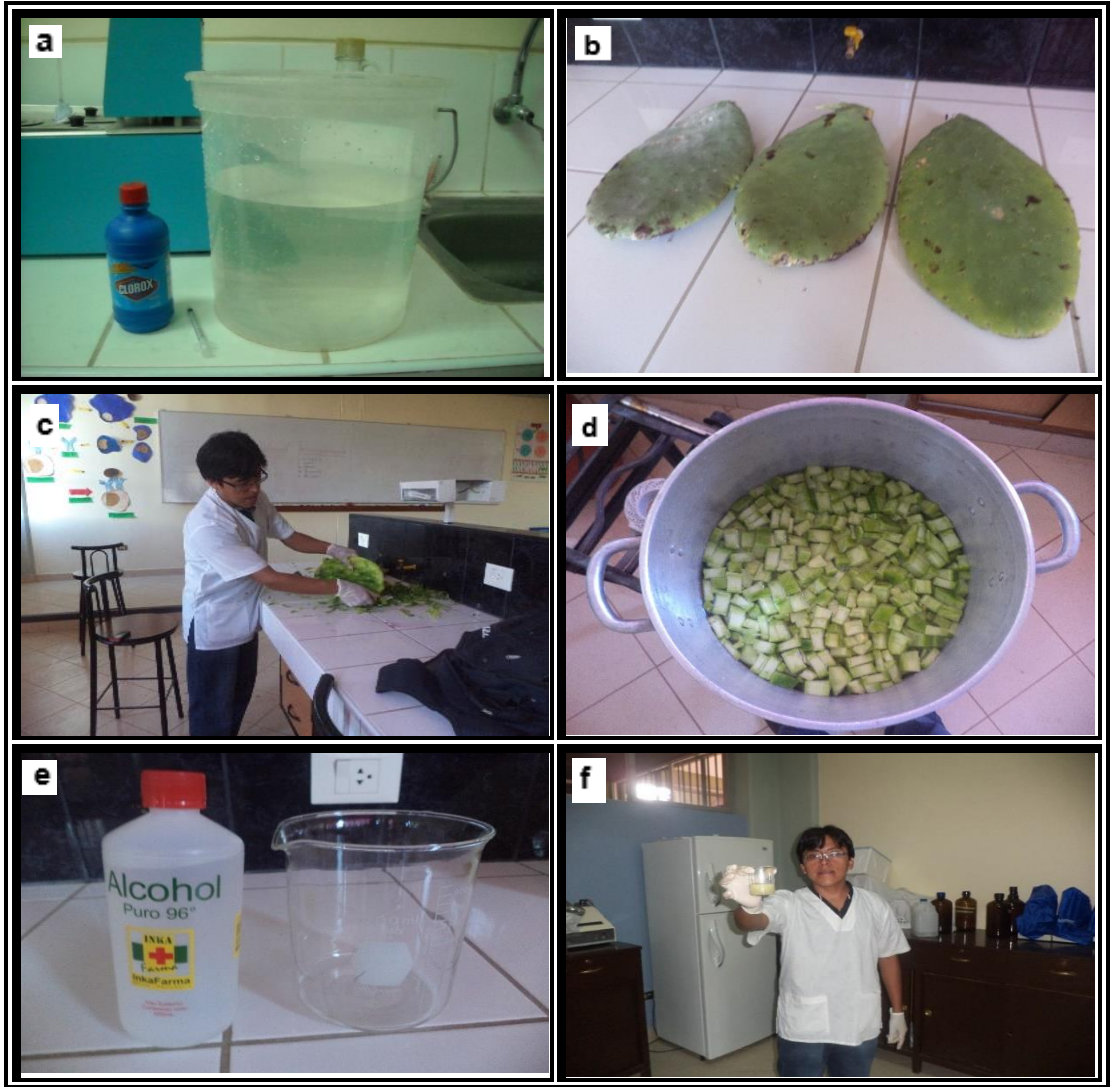


Figura 7. Preparación del mucilago del cladodio de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”.

ANEXO 5



Figura 8. Lavado, secado y molienda del mucilago de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna”.

ANEXO 6

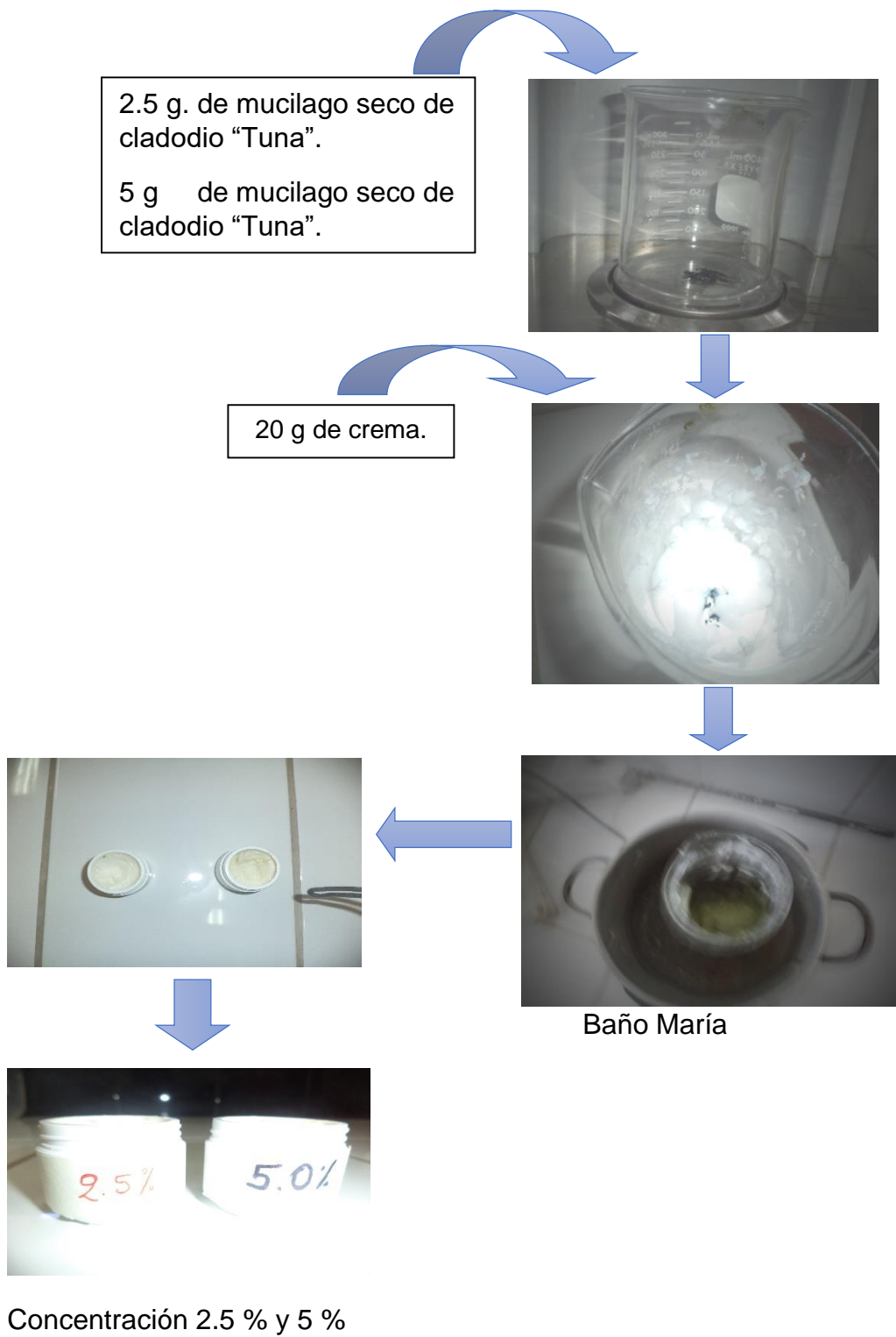


Figura 9. Flujograma de preparación de la crema del mucilago "tuna".

ANEXO 7



Figura 10. Procedimiento quirúrgico y la división aleatoria a sus respectivas jaulas.

ANEXO 8

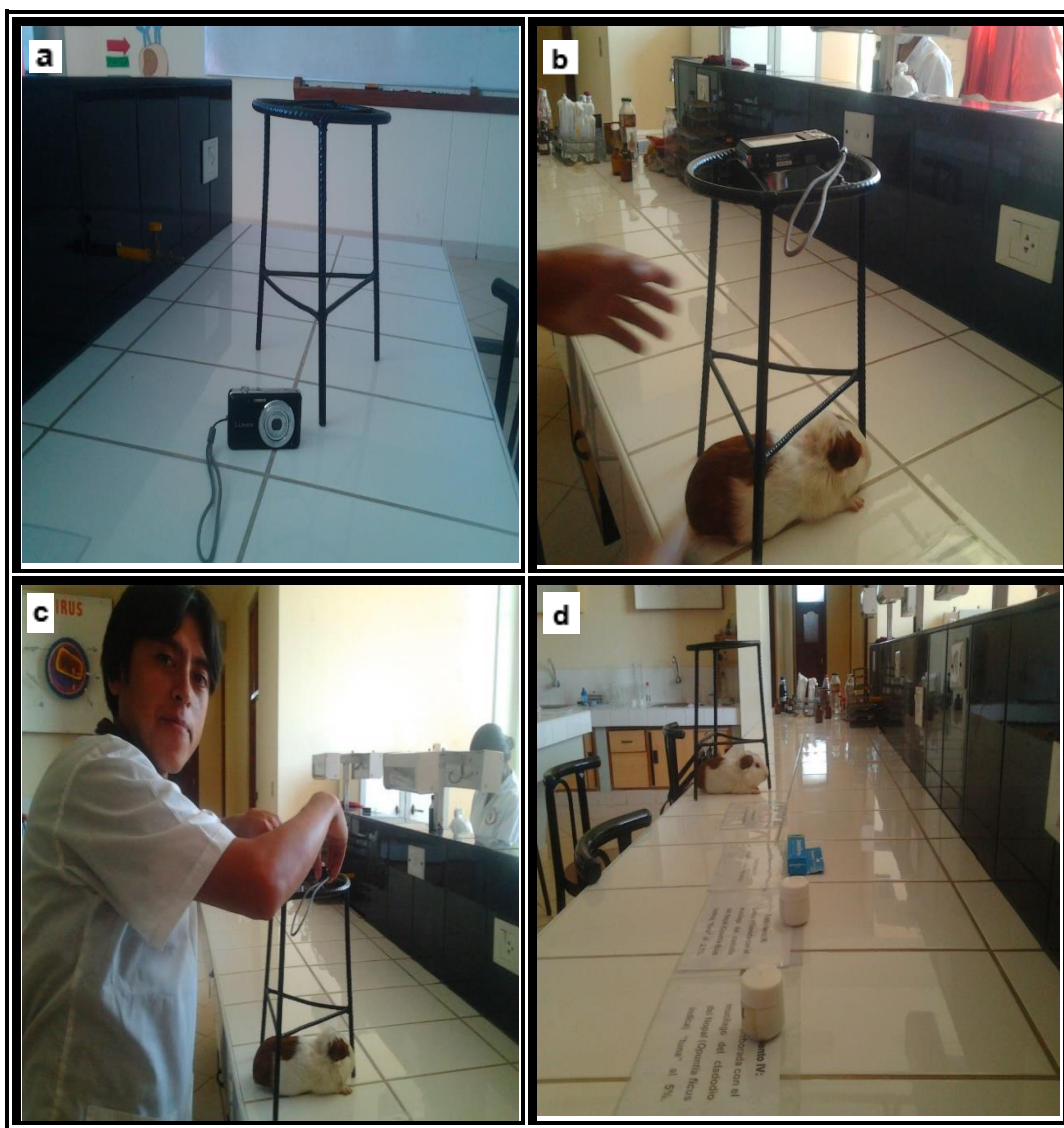


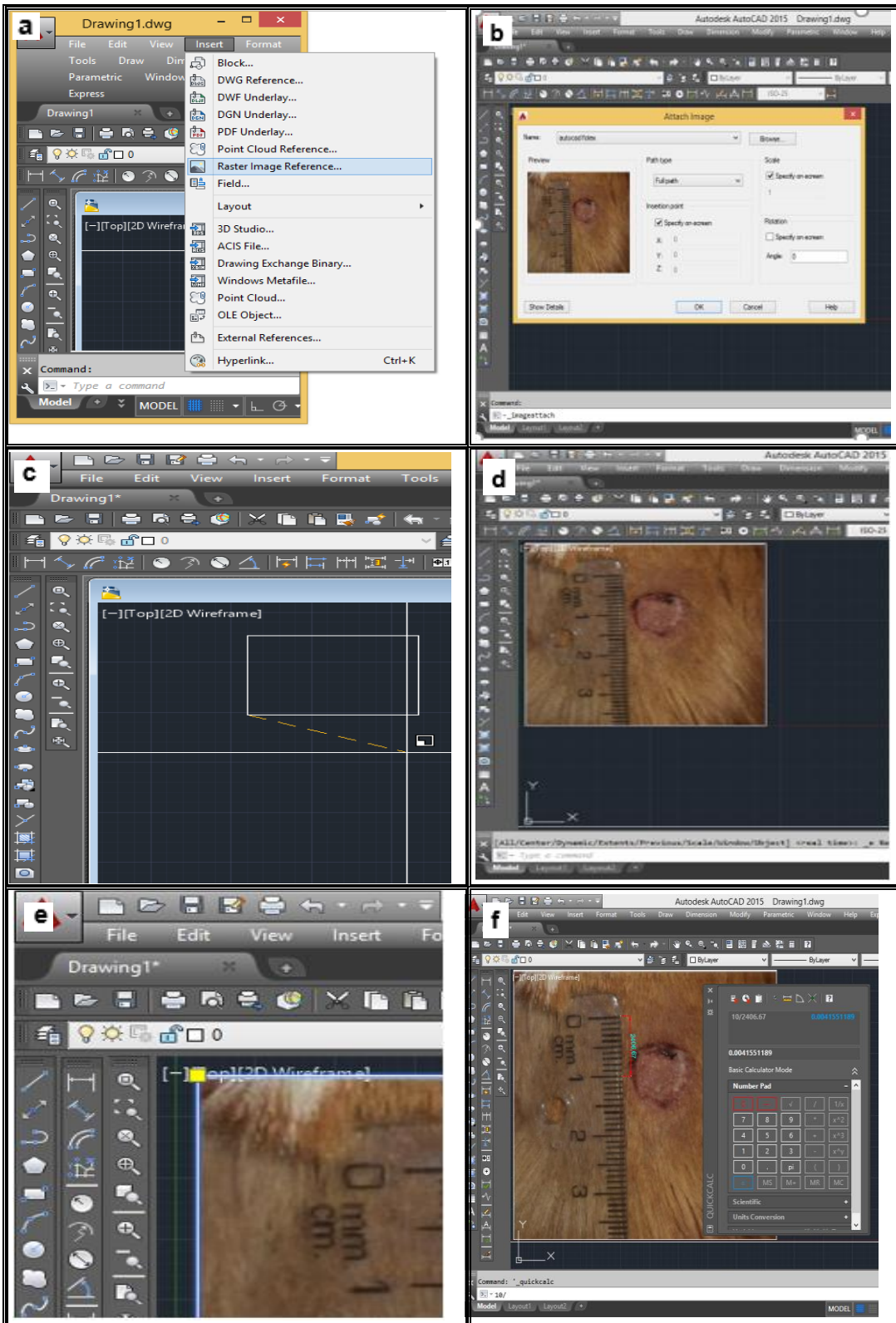
Figura 11. Materiales y procedimiento para la toma de fotos.

ANEXO 9



Figura 12. Crema comercial estándar.

ANEXO 10



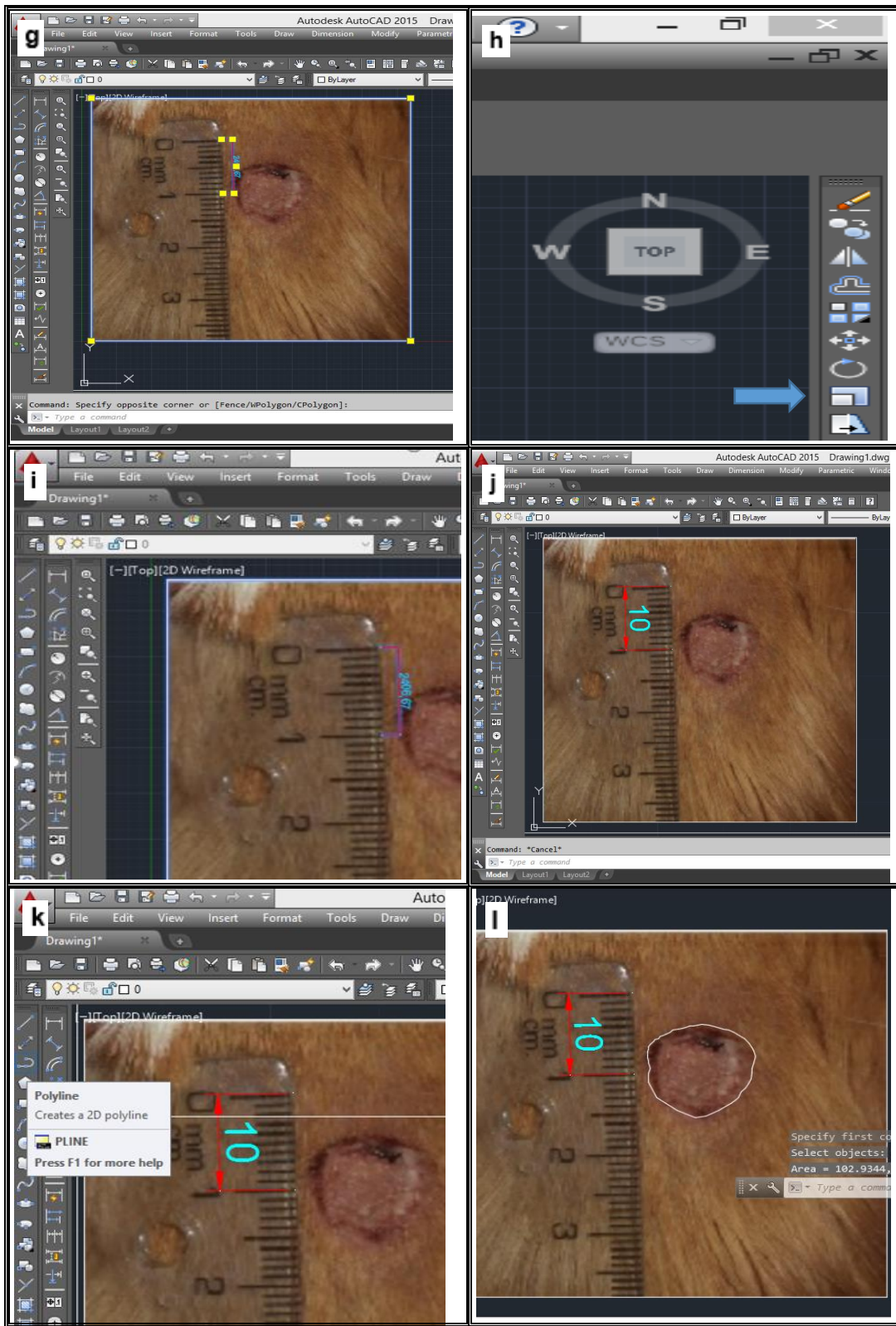


Figura 13. Procedimientos para hallar el área de la herida, utilizando el programa de AutoCAD 2015.

ANEXO 11

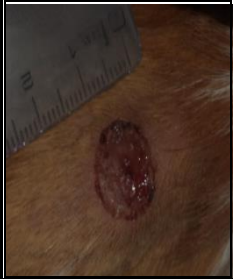






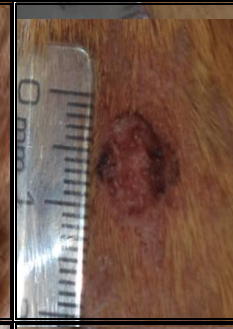

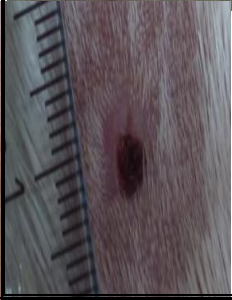



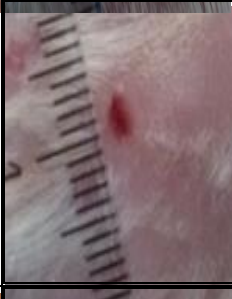






Días	Tratamientos			
	Blanco	Dermaclin plus	Crema 2.5%	Crema 5%
0				
6				
8				
10				
12				

Figura 14. Comparación de las heridas con los tratamientos hasta el día doce.

ANEXO 12

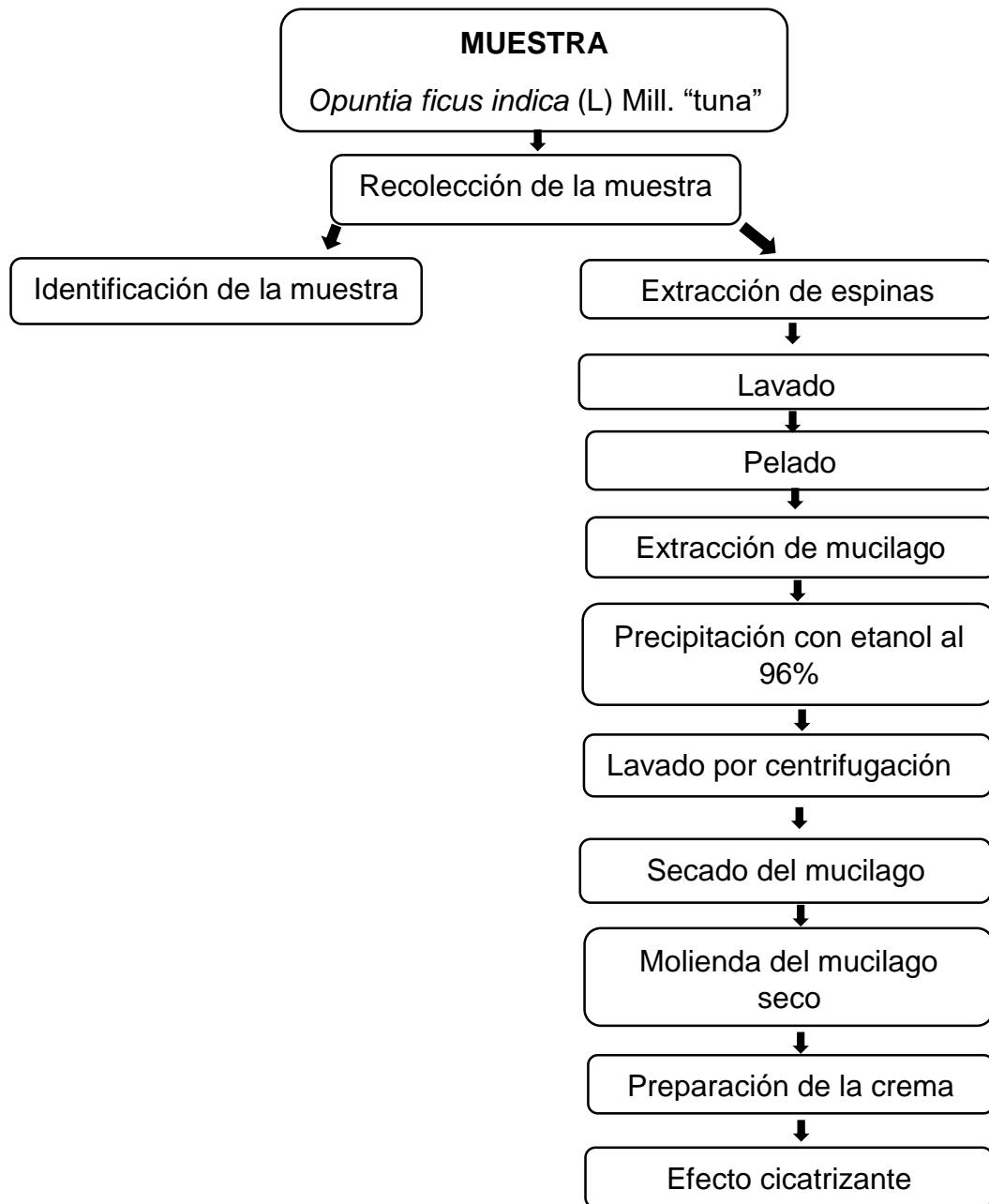


Figura 15. Protocolo de procedimientos metodológico de la especie *Opuntia ficus indica* (L) Mill.

ANEXO 13

Tabla 3. Screening fitoquímico de cladodios de las muestras de *Opuntia ficus indica* (L) utilizó el método de Cain – Bohmann.

	Cladodio (pulpa)	Cladodio (gel)	Cladodio (cáscara)
Saponinas	+	+	+
Taninos	+	++	++
Flavonoides	++	+	++
Cumarinas	++	-	++
Alcaloides	++	-	+

Fuente. Tomas 2012

Donde:

- No contiene : (-)
- Mínimo : (+)
- Moderado : (++)
- Intenso : (+++)

ANEXO 14

Tabla 4. Resultados de la medición de las áreas (mm²) de heridas con el programa AutoCAD 2015.

TRATAMIENTOS	DÍAS							PORCENTAJE
	día cero	día 2	día 4	día 6	día 8	día 10	día 12	%
Blanco	134.180	70.617	63.647	62.832	47.237	39.411	12.390	90.765
	170.884	136.719	108.797	81.432	66.718	35.372	1.443	99.155
	137.018	74.627	72.474	56.715	32.298	14.678	3.511	97.437
	126.171	115.885	94.206	83.146	26.777	13.421	4.322	96.574
Total	568.253	397.850	339.125	284.126	173.032	102.884	21.667	95.983
Promedios	142.063	99.462	84.781	71.031	43.258	25.721	5.416	
S	19.755	32.179	20.524	13.255	17.869	13.586	4.804	
Dermaclin plus	168.425	65.444	71.251	49.311	13.406	8.503	1.932	98.852
	119.404	63.240	72.972	50.538	10.685	5.387	0	100
	103.796	39.400	49.945	22.680	5.403	2.253	0	100
	174.722	152.222	143.786	96.164	26.958	16.078	2.024	98.841
Total	566.349	320.308	337.955	218.694	56.453	32.223	3.957	99.423
Promedios	141.587	80.077	84.488	54.673	14.113	8.055	0.989	
S	35.300	49.521	40.895	30.500	9.185	5.925	1.142	
2.50%	153.554	101.847	84.039	71.921	20.986	7.725	1.805	98.824
	159.152	151.578	53.345	40.685	18.338	4.548	0	100
	140.501	139.089	45.579	29.237	19.420	10.613	0	100
	133.691	122.053	91.952	73.274	33.557	8.450	0	100
Total	586.899	514.569	274.917	215.118	92.302	31.337	1.805	99.706
Promedios	146.724	128.642	68.729	53.779	23.075	7.834	0.451	
S	11.686	21.576	22.703	22.233	7.071	2.510	0.902	
5%	131.012	72.128	86.424	76.135	14.342	0	0	100
	150.510	103.288	120.360	96.403	32.668	13.521	0	100
	129.495	58.796	121.691	101.968	52.507	21.140	1.034	99.200
	152.315	98.523	105.577	85.572	28.543	8.179	0	100
Total	563.334	332.736	434.053	360.079	128.061	42.841	1.034	99.800
Promedios	140.833	83.184	108.513	90.019	32.015	10.710	0.258	
S	12.253	21.263	16.437	11.490	15.755	8.903	0.517	

ANEXO 15

Tabla 5. Análisis de varianza del porcentaje del área de la herida (mm²) de la crema elaborada con el mucilago de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” en heridas de cobayos (*Cavia porcellus*). Ayacucho 2014.

Días	Grupos	Suma de Cuadrados	gl.	Media cuadrática	F	Sig.
2	Inter-grupos	5926.90	3	1975.63	1.79	0.20
	Intra-grupos	13216.79	12	1101.39		
	Total	19143.69	15			
4	Inter-grupos	3229.97	3	1076.65	1.49	0.26
	Intra-grupos	8634.49	12	719.54		
	Total	11864.46	15			
6	Inter-grupos	3489.28	3	1163.09	2.68	0.09
	Intra-grupos	5197.05	13	433.08		
	Total	8686.33	15			
8	Inter-grupos	1863.84	3	621.28	3.54	0.04
	Intra-grupos	21.05.83	12	175.48		
	Total	3969.67	15			
10	Inter-grupos	872.67	3	290.89	3.81	0.03
	Intra-grupos	915.85	12	76.32		
	Total	1788.52	15			
12	Inter-grupos	71.72	3	23.90	3.75	0.04
	Intra-grupos	76.40	12	6.36		
	Total	148.12	15			

ANEXO 16

Tabla 6. Prueba de Dunnett del porcentaje de actividad cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” en heridas de cobayos (*Cavia porcellus*). Ayacucho 2014.

T Dunnett (bilateral)^a

(I) tratamiento (J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% intervalo de confianza	
				Límite inferior	Límite superior
Crema 2.5% Dermaclin plus	,282	,398	,710	-,759	1,324
Crema 5% Dermaclin plus	,377	,398	,559	-,664	1,419

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

ANEXO 17

Tabla 7. Porcentaje de actividad cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago de Nopal (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) “tuna” en heridas de cobayos (*Cavia porcellus*). Ayacucho 2014, con la prueba de Dunnett.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa= 0,05
		1
Dermaclin plus	4	99,42
Crema 2.5%	4	99,70
Crema 5%	4	99,80
Sig.		,626

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Tabla 9. Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
Efecto de una crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal "tuna" (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) en la cicatrización de heridas en cobayos. (<i>Cavia porcellus</i>) Ayacucho-2014.	¿Será eficaz la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal "tuna" (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) a diferentes concentraciones en la cicatrización de heridas en cobayos?	<p>General: Determinar el efecto de una crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) "tuna", en la cicatrización de heridas en cobayos.</p> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el efecto de una crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) "tuna", en concentraciones de 2.5% y 5%. • Comparar el efecto cicatrizante de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) "tuna", con el Dermaclin Plus® utilizando la prueba de Dunnett 	<p><i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill. Tiene una parte arbórea que llega a alcanzar dos metros de altura, presenta frutos, flores y tallos denominados cladodios que están constituidos por fibras celulósicas; desarrolla bien en climas áridos y semiáridos.</p> <p>Usos medicinales La primera preparación tópica formulada con 15% de extractos de cladodios aplicadas para curar heridas. Otra aplicación en forma de cataplasma para inflamaciones y heridas. Otra aplicación es su efecto hipoglucemiante.</p> <p>Herida Es la región anatómica donde queda interrumpida la continuidad celular entendiéndose por una solución de continuidad de las cubiertas externas que lo protegen, como es el caso de los tegumentos, las capas de revestimiento mucoso o de la superficie o cápsula fibrosa de los órganos.</p> <p>Fisiología dela cicatrización Es un proceso dinámico, interactivo en el cual participan mediadores solubles extracelulares, células sanguíneas, células del matriz tisular y del parénquima. El proceso de reparación se divide en fases: hemostasia, inflamatoria o de granulación y de remodelación.</p>	La aplicación de la crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal "tuna" (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) es efectiva a diferentes concentracion es en la cicatrización de heridas en cobayos.	<p>Variable independiente: Crema elaborada con el mucilago del cladodio del Nopal "tuna".</p> <p>Indicador: Concentraciones de 2.5% y al 5%</p> <p>Variable dependiente: Actividad cicatrizante en heridas de cobayos.</p> <p>Indicador: Tiempo de reducción del área de cicatrización.</p> <p>Variable de control: Blanco (agua destilada)</p>	<p>Tipo de investigación: Experimental.</p> <p>Muestreo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Población: cinco Kg de cladodios del Nopal. (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) "tuna", recolectados en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). Ayacucho ubicado a 2746 m.s.n.m. • Muestra: Cinco kg de cladodio del Nopal <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna". <p>Método experimental: Propuesto por Mónton.</p> <p>Diseño experimental Se preparó cuatro grupos experimentales, cada uno con cuatro cobayos distribuidos al azar. El primer grupo es el control, al cual se le administró agua destilada, el segundo grupo es el estándar al cual se administró Dermaclin Plus, al tercer grupo se le administró la crema elaborada con el mucilago del cladodio Nopal (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) 'tuna' a una concentración de 2.5% y al cuarto grupo se le administró la crema elaborada con el mucilago del cladodio Nopal (<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.) 'tuna' a una concentración de 5%.</p> <p>Análisis de datos Los resultados se expresan en tablas y figuras. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos son evaluados a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones serán entre cada tratamiento a través de la Prueba de Dunnet</p>

