

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las
hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho".

Ayacucho 2016

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

Presentado por:

Bach. CANAHUALPA CISNEROS, Mercedes

AYACUCHO-PERÚ

2016

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS
Bach: Mercedes Canahualpa Cisneros
R.D N° 174-2016-FCSA-UNSCH

En la ciudad de Ayacucho, del día viernes 26 de agosto del dos mil dieciséis en el auditorio de la Escuela de Medicina, reunido el jurado de sustentación, presidido por el Dr. Edwin Enciso Roca (por delegación) en representación del Decano de la Facultad; Mg. Marco Arones Jara; Mg. Maricela López Sierralta; Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo (Miembro Asesor); Mg. Edgar Cárdenas Landeo (Cuarto Jurado) para recepcionar y calificar la sustentación de la tesis titulada: Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016, presentado por la bachiller Srta. Mercedes Canahualpa Cisneros, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

El presidente inicia el acto de sustentación solicitando a la profesora Maricela López (Secretaria Docente) que de lectura a la resolución decanal N° 174-216-FCSA-UNSCH, y luego de verificar los documentos, autoriza a la sustentante de inicio a su exposición en el tiempo correspondiente.

Culminada la exposición los miembros del jurado calificador realizaron las observaciones, aclaraciones o preguntas que crean correspondiente a la sustentante.

Seguidamente el presidente (e) solicita a la sustentante y público en general que abandonen el ambiente dejando al jurado calificar, para que puedan deliberar y emitir la calificación como sigue:

Jurado Calificador	Texto	Exposición	Respuestas	Promedio
Mg. Marco Arones Jara	16	16	16	16
Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17	17
Mg. Maricela López Sierralta	16	17	16	16
Mg. Edgar Cárdenas Landeo	16	16	16	16

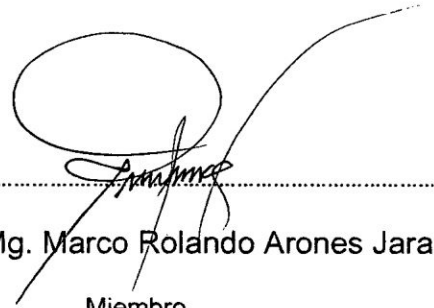
PROMEDIO TOTAL 16

De la calificación efectuada por los miembros del jurado calificador, la sustentante obtuvo la nota promedio de Dieciséis (16) de la cual dan fe los miembros estampando su firma al pie de la presente. Culmina el acto de sustentación siendo las seis de la noche.



Dr. Edwin Carlos Enciso Roca

Presidente (e)



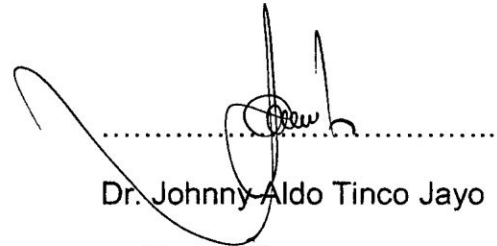
Mg. Marco Rolando Arones Jara

Miembro



Mg. Maricela López Sierralta

Miembro-Secretaria Docente



Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo

Miembro-Asesor



Mg. Edgar Cárdenas Landeo

Miembro (Cuarto Jurado)

DEDICATORIA

A mis abuelos Pedro Canahualpa
Orihuela y Andrea Fabián Herrera
QEPD.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que hicieron posible mi formación profesional.

A mi asesor, el Dr. Q.F. TINCO JAYO, Aldo, asesor del presente trabajo de investigación, por el apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Lisianthus alatus Aubl</i> "kimsa cucho"	4
2.3. La piel	7
2.4. La herida	8
2.5. Fisiología de la cicatrización	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Ubicación	15
3.2. Población y muestra	15
3.3. Unidad experimental	15
3.4. Procedimiento metodológico y recolección de datos	15
3.5. Diseño de investigación	19
3.6. Análisis estadístico	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1	22
Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016.	

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Fisiología de la cicatrización.	9
Figura 2	Cascada de coagulación.	10
Figura 3	Promedio de resistencia a la tensión (mL) para evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho" ($p=2,16 \times e^{-11}$). Ayacucho 2016	23
Figura 4	Porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016.	24

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1	Certificado de identificación sistemática de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho".	42
Anexo 2	Certificado Sanitario del Material Biológico.	43
Anexo 3	Protocolo del procedimiento metodológico Ayacucho	44
Anexo 4	<i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016	45
Anexo 5	Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho. Ayacucho 2016	46
Anexo 6	Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de hojas del <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho".	47
Anexo 7	Extractos concentrados de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016	48
Anexo 8	Materiales para la depilación e incisión.	49
Anexo 9	Ratón depilado y con incisión en el lomo.	50
Anexo 10	Sutura del ratón albino <i>Mus musculus</i> en el laboratorio de Farmacología – UNSCH. Ayacucho 2016.	51
Anexo 11	Sutura de dos puntos con nudo triple en el tercio superior del lomo de los ratones. Ayacucho 2016.	52
Anexo 12	Separación de los ratones por grupos de tratamiento para la evaluación cicatrizante. Ayacucho 2016.	53
Anexo 13	Tratamiento con el extracto hidroalcohólico de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016	54
Anexo 14	Tratamiento con el fármaco de referencia (dermaclin plus al 1%). Ayacucho 2016.	55
Anexo 15	Resistencia de tensión por volumen ejercida en el lomo del ratón sacrificado, sobre el dinamómetro en el laboratorio de Farmacología – UNSCH. Ayacucho 2016	56
Anexo 16	Análisis básicos de parámetros fisicoquímicos de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho -2016.	57
Anexo 17	Análisis de varianza de la actividad cicatrizante de las hojas <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho".	58
Anexo 18	Prueba de Tukey del porcentaje de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. Ayacucho 2016	59

Anexo 19	Prueba de método Dunnett de la resistencia con tensión al volumen de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. Ayacucho 2016	60
Anexo 20	Análisis descriptivo de datos obtenidos en el ensayo de la actividad cicatrizante.	61
Anexo 21	Matriz de consistencia	62

RESUMEN

El presente trabajo de investigación básico experimental se realizó durante los meses de Marzo a Julio 2016, en los Laboratorios de Farmacología y Farmacognosia, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, con la finalidad de determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". La determinación taxonómica se realizó en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga con la colaboración de la Bióloga Laura Aucasime Medina. En la identificación fitoquímica del extracto, se reporta la presencia de triterpenoides y esteroides, catequinas, saponinas, flavonoides, azúcares, taninos, fenoles y aminoácidos. Para determinar el efecto cicatrizante, se usó el método de test de cicatrización descrito por Howes. La investigación se realizó en ratones albinos machos de un peso aproximado de 20 – 25 g. Los ratones fueron clasificados en cinco tratamientos: gel base (blanco), dermaclin plus (fármaco de referencia), extracto hidroalcohólico de hojas al 1%; al 2% y al 4% de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", los cuales fueron gelificados para su administración. Se determinó el efecto cicatrizante de los tres extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", el extracto al 1% obtuvo una actividad cicatrizante de 16,78% al 2% 41,83% al 4% 75,77% respectivamente y el fármaco de referencia dermaclin plus al 1% con una actividad de 86,56%. Resultando con mayor actividad cicatrizante el extracto al 4%.

Palabras clave: Cicatrización, *Lisianthus alatus* Aubl.

I. INTRODUCCIÓN

Nuestro organismo posee, mecanismos protectores, como son la inflamación y la reparación, sin las cuales las heridas no llegarían a cicatrizar, no se frenarían las infecciones bacterianas y los tejidos de órganos lesionados pudieran conservar defectos permanentemente. La cicatrización empieza muy precozmente en el curso de la inflamación, cuando los macrófagos comienzan a digerir los microorganismos que han sobrevivido al ataque de los neutrófilos y destruir a las células parenquimatosas y neutrófilos muertos. Generalmente veinticuatro horas después de la lesión, comienzan a proliferar los fibroblastos y las células endoteliales que en un periodo de tres a cinco días forman un tejido especializado (tejido de granulación) que es el rasgo fundamental de la curación de la inflamación. El tejido de la granulación tiene un aspecto granular blando en la superficie de las heridas; su característica histopatológica fundamental es la proliferación de pequeños vasos de neoformación y fibroblastos. Finalmente, este tejido da lugar a una cicatriz formada por fibroblastos fusiformes, colágeno fragmentos de tejidos elásticos matriz extracelular y vasos relativamente escasos.¹

Muchas prácticas tradicionales en todo el mundo, particularmente en nuestro país, poseen información valiosa de muchas plantas silvestres hasta ahora desconocidas pero usadas por los curanderos tradicionales para el tratamiento de heridas y quemaduras. La última década ha visto un cambio considerable en la opinión con respecto a las aplicaciones terapéuticas etnofarmacológicas. La presencia de varios componentes que sostienen la vida en las plantas ha instado a los científicos para examinar estas plantas con el fin de determinar las posibles propiedades de cicatrización de heridas.²

Estudios de esta naturaleza (básico experimental). Ponen de manifiesto resultados útiles para seguir avanzando en esta misma línea de investigación.

Este trabajo aportará evidencia científica sobre las potencialidades terapéuticas de *Lisianthus alatus* Aubl. en el tema cicatrización; esto siguiendo una metodología validada. A su vez, servirá como estudio preliminar a estudios de seguridad, calidad, eficacia y finalmente, su estudio aplicado en la formulación de formas farmacéuticas cicatrizantes, y farmacológicos más avanzados y su posterior escalamiento hacia un nivel aplicado de investigación.

Este estudio, revaloriza esta especie como recurso alternativo en el tratamiento de heridas, cuyo uso tradicional será demostrada experimentalmente. Cabe resaltar que en la Región de Ayacucho en la población rural del Valle de Rio Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM) y en otros lugares trópicos; las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl "kimsa cucho" se utiliza de manera empírica para diferentes signos y sintomatologías, como para los cólicos intestinales, agente cicatrizante, hipocolesterolemiante, antihipertensivo, antipirético, etc. pero no hay estudios científicos que demuestren dichas actividades.³

Es así que se toma con gran interés estudiar y demostrar a través de ensayos farmacológicos, el posible efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl "kimsa cucho" comparando su eficacia con un fármaco de referencia el dermaclin plus 1%, en ratones.

Como resultado de este estudio a nivel experimental se plantearon los siguientes objetivos.

Objetivo General

Determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl "kimsa cucho".

Objetivos Específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl "Kimsa cucho" mediante identificación fitoquímica.
- Evaluar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl "Kimsa cucho", con (Dermaclín Plus®).
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos de las hojas y el extracto hidroalcohólico de *Lisianthus alatus* Aubl "Kimsa cucho".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

A continuación, se reportan estudios e investigaciones realizadas con el género *Lisianthus*:

Domered y *col.*⁴ realizaron estudios de la especie *Lisianthus aphyllus*, mostrando actividad cicatrizante de ungüentos elaborados a partir de extractos etanólicos a concentraciones de 5% y 10%, estos evaluados mediante estudios histológicos de la cicatrización de úlceras cutáneas inducidas por incisión, prosiguiendo a un estudio estadístico de evolución cicatricial de las lesiones cutáneas, mostrando en los resultados con un alto porcentaje de actividad cicatrizante 75% para el extracto de 10% en comparación con el grupo control tratado únicamente con ungüento base.

Kaleab investigó acerca de la evaluación de la cicatrización de heridas y actividad antiinflamatoria de los rizomas de plantas del genero *Lisanthus* para lo cual formuló ungüentos al 5% y 10% W/W a base del extracto metanólico, se evaluó a continuación la pomada para cicatrización de heridas, observando parámetros que incluyeron, contracción de la herida, el tiempo de la epitelización y el contenido de hidroxiprolina, se determinó utilizando el modelo de la escisión, mientras que se midió resistencia a tracción del modelo de incisión. En paralelo la actividad antiinflamatoria de dichos rizomas se evaluó con carragenina induciendo la pata trasera siguiendo el modelo de edema plantar; disolviendo el extracto metanólico al 80% en 1% de celulosa de metilo y carboxilo, la administración por vía oral fue a concentraciones de 250; 500 y 750 mg/kg.⁵

Prasanta y Anjali, realizaron estudios de actividades terapéuticas de fitoextractos mediante investigación sistémica, llevada a cabo con la evaluación en la investigación de la cicatrización de heridas, recopilado durante los últimos 20 años. Se han identificado alrededor de 450 especies de plantas que tienen

propiedades de curación de heridas, comprendiendo procesos de coagulación, inflamación, la proliferación, la acumulación de tejido fibroso, entre las especies estudiadas comprende algunas del género *Lisianthus*, otorgando actividades cicatrizantes a compuestos como flavonoides y taninos; mencionando que actúan inhibiendo la actividad antimicrobiana, propiedades de eliminación de radicales libres, o como estimuladores en la producción de colágeno y/o promotores de angiogénesis.⁶

Palomino,⁷ investigó el efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de "kimsa cucho", sobre la hiperplasia prostática benigna. La investigación se realizó siguiendo la metodología de Hoyos obteniéndose dosis de 200 mg/kg de extracto que redujo el peso de la próstata en 0,805 g a comparación con el estándar con 0,842 g; esto teniendo referencia el peso de próstata de un control 1,114 g; en cuanto al volumen de la próstata dosis a dosis de 200 mg/kg mostró buenos resultados con 2,47 cm³ que difiere con el estándar que obtuvo 2,13 cm³. Obando, realizó estudios de los alcaloides del látex de la especie *Croton draconoides* "sangre de grado", y la elaboración de una forma farmacéutica de acción cicatrizante; evaluándose el efecto cicatrizante mediante el método de incisión en la piel de ratones con concentraciones de 0,5%, 1,0 %, 1,5% y 2,0% del látex liofilizado; dio como conclusión de mejor actividad la concentración de 1,5%, éstas comparadas con un medicamento de referencia Dermaclin plus.⁸

Vargas, estudió la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de *Senna reticulata* "retama"; concluyendo que la mejor actividad fue de la concentración al 20%.⁹

Jensen y col.¹⁰ estudiaron la quimiotaxonomía y la farmacología del orden Gentianaceae, entre las especies evaluadas referían el estudio de *Lisianthus alatus* mostrando la composición química de esta, pudiéndose encontrar iridoides, gentiopicrosido, ácido logánico, flavonoles, flavonas y xantonas.

2.2. *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho"

a) Clasificación taxonómica de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" según Cronquist A. 1988.

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE : ASTERIDAE
ORDEN : GENTIANALES
FAMILIA : GENTIANACEAE

GENERO : *Lisianthus*
ESPECIE : *Lisianthus alatus* Aubl.
N.V. : "kimsa cucho"

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamanguensis*¹¹ (Anexo 1)

b) Descripción botánica de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho"

Es una planta perenne, de 1,50 – 1,80 m de alto aproximadamente, los tallos presentan unas expansiones a manera de alas, glabros, con entrenudos largos, las hojas son simples, sésiles, glabras, aovado, elípticas de ápice agudo y base ancha, de bordes enteros de disposición opuesta. La inflorescencia se presenta generalmente en cimas axilares; con las flores grandes y verdosas, heteroclamídeas, pentámeras y bisexuales. Cáliz de color verdoso, globoso y glabro, con los sépalos soldados en la base que terminan en 5 lóbulos algo obtusos; corola formado por 5 pétalos verdosos, adheridos en la base terminan en 5 lóbulos cortos y agudos; estambres libres y ovario súpero; el fruto es una cápsula. Se encuentran en las regiones tropicales y subtropicales, crece en bordes de caminos, a lo largo de las trochas y alrededores de las chacras, junto con los pastizales.¹¹

c) Usos medicinales

Los pobladores de las cuencas altas de los ríos Tambopata e Inambari en Perú, emplean el jugo fresco de las hojas trituradas de *Lisianthus alatus* en el tratamiento de parásitos y dolores dentales, para tratamientos del hígado. Los indígenas de las cuencas del Amazonas y del Río Negro utilizan la planta para tratar heridas en la piel, infecciones dermatológicas causadas por hongos e infecciones vaginales. En Guayana Francesa, los nativos emplean la decocción salina de la planta completa para descongestionar la vesícula biliar; también la utilizan para aliviar malestares estomacales, como purgante, laxante y como febrífugo. El tallo lo emplean para tratar picaduras y eczemas provocados por ácaros. La comunidad Arawak de Guyana utiliza la infusión de las hojas para tratar la viruela, la tos, fiebres, trastornos biliares, malaria, ictericia y para purificar la sangre.¹¹

Medicinalmente se usa según los pobladores de Santa Rosa - VRAEM Ayacucho contra los cólicos gastrointestinales como antiespasmódico y enfermedades hepáticas, renales, corazón y fiebre, se utilizan las ramas con hojas en infusión.¹¹

d) Distribución geográfica

El Perú es el país de los Andes que tiene mayor área con plantas de kimsa cucho, seguido muy de lejos por Bolivia, Ecuador y Colombia.¹²

Se encuentran en las regiones tropicales y subtropicales, crece en bordes de los caminos, a lo largo de las trochas y alrededores de las chacras, junto con los pastizales.¹²

En el departamento de Ayacucho se encuentra distribuida en el distrito de Santa Rosa, ubicado a 708 msnm.¹¹

e) Compuestos presentes en la Familia Gentianaceae

En la familia Gentianaceae se han identificado algunos metabolitos definidos como marcadores quimiotaxonómicos; entre estos se encuentran los denominados iridoides, las xantonas como la mangiferina y los C-glucoflavonoides. Las especies de la tribu Helieae se caracterizan por presentar iridoides, entre estos se incluyen los secoiridoides; además se conocen xantonas biosintéticamente primitivas, se distinguen por la ausencia de mangiferina y C-glucoflavonoides.¹³

Li Min y Lu Li, realizaron estudios acerca de la familia Gentianaceae; lograron identificar compuestos fenólicos, ácido oleanólico, ácido ursólico, isoorientina, gentiopicrosido y luteolin también mostraron otros compuestos como secoiridoides que se aislaron se conocen como vogeloside, dihidro - chelonanthosido y swerosido¹⁴

f) Características de la Familia Gentianaceae

La familia de las Gentianaceae incluye muchos árboles, matorrales y hierbas de zonas tropicales y templadas con diversos tipos de flores de distintas coloraciones que son muy apreciados en las poblaciones por sus colores y su belleza.¹⁵

La familia Gentianaceae se encuentra distribuida en los cinco continentes, contiene 87 géneros y más de 1600 especies clasificadas en seis tribus y es la tercera familia más grande del orden Gentianales. Las plantas de esta familia presentan grandes variaciones en cuanto su hábitat, morfología, y distribución geográfica; en general habitan en regiones templadas, subtropicales y tropicales y se caracterizan por presentar principios amargos y colorantes. En Centroamérica y Sudamérica se ha descrito una gran diversidad con 47 géneros nativos de los cuales 36 son endémicos.¹⁶

El orden de Gentianales incluye aproximadamente 19.660 especies. Las restantes cuatro familias que componen este orden son las Rubiaceae (aproximadamente 13.000 especies), Apocyanaceae (alrededor de 4.600 especies), Loganiaceae (aproximadamente 400 especies) y las Gelsemiaceae (con 11 especies). Algunos caracteres morfológicos aparecen con cierta frecuencia en distintas taxas de esta familia. Las Gentianaceae son hierbas anuales o perennes, herbáceas diferenciadas, arbustos o pequeños árboles; los troncos y las ramificaciones son muy delgados en los extremos o cuadrangulares y son a menudo alados; generalmente con floema interior. Las hojas son en general opuestas, rara vez, alternas o verticilantes, simples; con margen entero (rara vez dentado); la lámina folia es más o menos sésil, penninervia; las estipulas normalmente están ausentes. Inflorescencias definidas, a veces reducidas a una sola flor, pre escapular o terminales, a menudo orillos, a veces racemosa, caso o en espiga, las flores son preferentemente hermafroditas, actinomorfas. Los estambres, generalmente 4 o 5, son filamentos soldados a la base de la corola; las anteras son a menudo sagitadas, a veces dehiscentes. El estigma más o menos capitado o fuertemente bilobado con lóbulos que a veces son retorcidos en espiral. El fruto es en general una cápsula sectisida. La polinización de las flores de las Gentianaceae normalmente lo hacen himenópteros (abejas) o lepidópteros (mariposas). Muchas especies pertenecientes a esta familia son plantas de notable vistosidad y belleza y por lo tanto en muchas zonas están amenazadas de extinción debida tanto a las colecciones excesivas, como a la alteración de los habitantes.¹⁶

2.3. La piel

La piel protege al cuerpo frente al medio ambiente y evita las pérdidas excesivas de proteínas, electrolitos, agua y calor. Es uno de los órganos más voluminosos, tiene un área de unos 1,8 m² y constituye el 16% del peso corporal. Está formada por la epidermis, la dermis y la hipodermis.¹⁷

a) Epidermis

La epidermis es un epitelio pavimentoso estratificado, de un espesor medio de 20 mm, cuyas células se diferencian lentamente desde el interior hasta la superficie por el proceso de queratinización en ella se encuentran cuatro tipos de células: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel.¹⁸

b) Dermis

Es un tejido conjuntivo vascular y con abundantes terminaciones nerviosas. Este tejido conectivo se caracteriza por contener células y sustancias extracelulares, en su mayoría secretadas por uno de los tipos celulares (los fibroblastos) y que en condiciones normales constituyen una porción del tejido mayor que las células. En conjunto, las sustancias extracelulares se denominan matriz extracelular (MEC) compuesta por fibras incluidas en una matriz amorfa que contiene líquido tisular. Las fibras del tejido conectivo se dividen en tres tipos, fibras de colágeno, reticulares y elásticas.¹⁸

c) Hipodermis

Representa el estrato más profundo de la capa corporal exterior, está compuesto por tejido conjuntivo laxo.¹⁸

2.4. La 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. En todas las heridas hay una alteración metabólica continua que dura semanas, meses o incluso años.¹⁹

2.5. Fisiología 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.²⁰

a. Fase I. Hemostasia

Una vez ocurre 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.²⁰

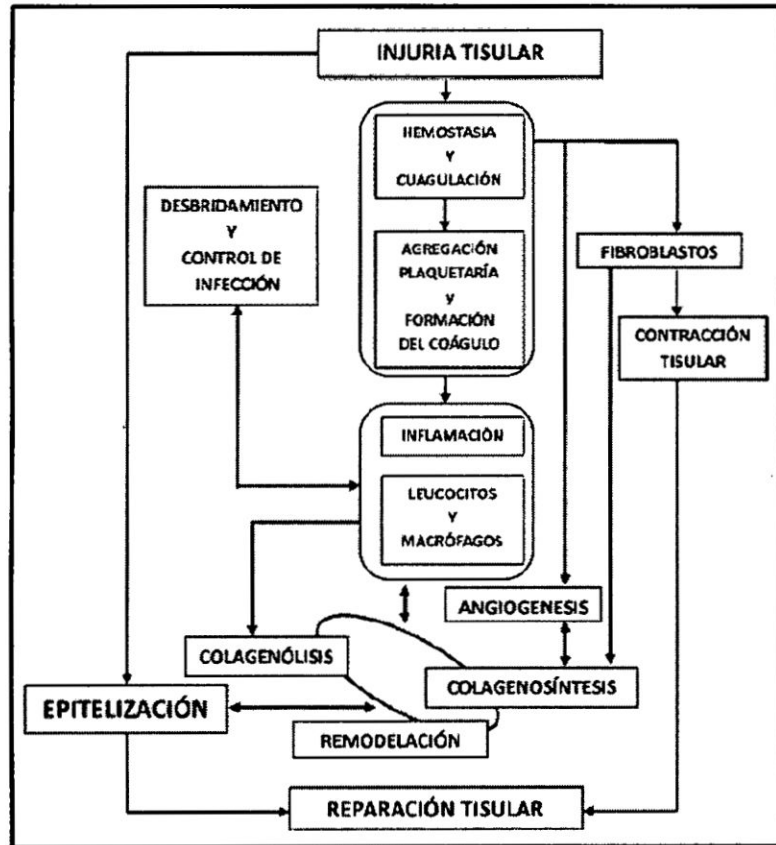


Figura 1. Fisiología de la cicatrización.²⁰

b. Fase II. Inflamatoria

Durante la fase inflamatoria ocurre un proceso de coagulación que detiene la pérdida de sangre (hemostasis), además se liberan varios factores para atraer células que fagociten residuos, bacterias, tejido dañado y liberen factores que inicien la fase proliferativa de la cicatrización de heridas.²⁰

Cascada de coagulación. - La sangre toma contacto con el colágeno, lo que provoca que las plaquetas de la sangre comiencen a secretar factores inflamatorios. La fibrina y la fibronectina se enlazan y forman una red o tapón que atrapa proteínas y partículas evitando la pérdida de sangre. Este tapón de fibrina-fibronectina constituye el principal soporte estructural de la herida hasta que se deposite el colágeno. El coágulo es eventualmente degradado por lisinas y reemplazado por tejido granular y posteriormente por colágeno.¹⁹

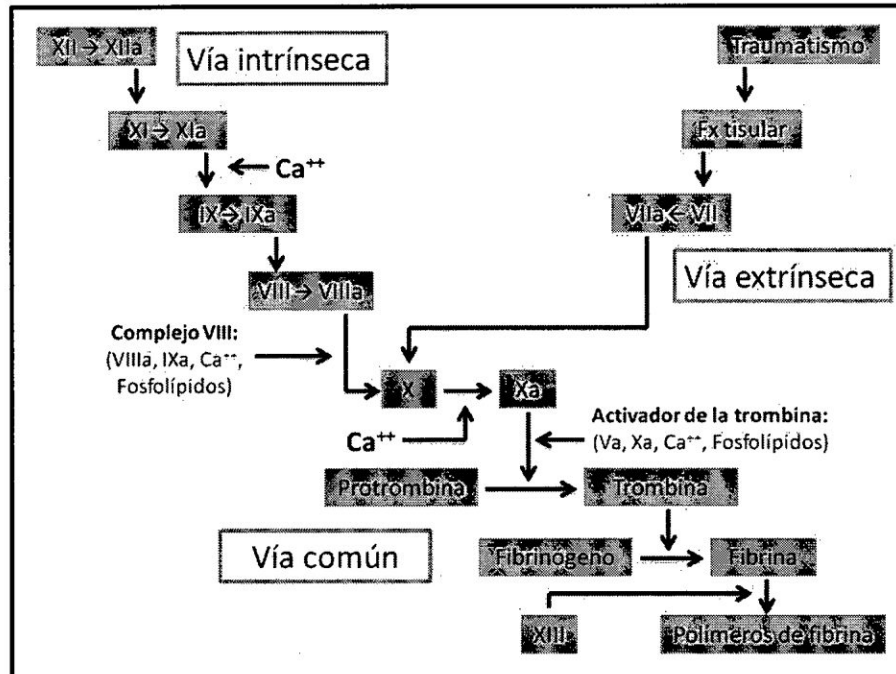


Figura 2. Cascada de coagulación.²⁰

Plaquetas.- Son fragmentos de células que intervienen en el proceso de coagulación, confluyen en el mayor número al producirse una herida y liberan una serie de sustancias en la sangre, incluidas proteínas, citoquinas y factores de crecimiento, también liberan factores que favorecen la inflamación como son: serotonina, bradiquinina, prostaglandinas, prostaciclina, tromboxano e histamina; que aumentan la velocidad de la migración de células hacia la zona, favorecen a los vasos sanguíneos en el proceso de dilatación y aumento de porosidad.²⁰

Vasoconstricción y vasodilatación.- Inmediatamente al daño de un vaso sanguíneo, las membranas celulares dañadas liberan factores inflamatorios tales como tromboxano y prostaglandinas, estos hacen que el vaso se contraiga. Esta vasoconstricción dura de 5 a 10 minutos, seguida por una etapa de vasodilatación. El principal factor que desencadena la vasodilatación es la histamina.²⁰

Leucocitos polimorfo nucleares.- Al cabo de una hora de haberse producido la herida, los leucocitos polimorfo nucleares o granulocitos llegan a ella y se convierten en las células más abundantes en la zona de la herida durante los próximos tres días. Las fibronectina, los factores de crecimiento y sustancias tales como neuropépticos y quininas son los que lo atraen a la herida. Los granulocitos fagocitan los residuos y bacterias.²⁰

Macrófagos.- Son células con función fagocitaria, dos días de producida la herida, los macrófagos son más abundantes en la zona de herida. Los monocitos del torrente sanguíneo son atraídos a la zona de la herida por los factores de crecimiento liberados por las plaquetas y otras células. Una vez en la zona de la herida, los monocitos maduran y se transforman en macrófagos, que es la principal célula responsable de limpiar la zona de bacterias y residuos.²⁰

c. Fase III. Proliferativa o de granulación

Luego de transcurridos de dos a tres días desde la ocurrencia de la herida, comienza la afluencia de los fibroblastos en la cicatriz, marcan el comienzo de la fase proliferativa aún antes de que la fase inflamatoria haya concluido. Al igual que las otras fases de cicatrización el paso en la fase proliferativa no tiene lugar en forma sucesiva, sino que los mismos ocurren simultáneamente.¹⁸

Angiogénesis. También llamado neovascularización tiene lugar simultáneamente con la proliferación de fibroblastos, cuando las células endoteliales migran hacia la zona de la herida.²⁰

Fibroplasia y formación de tejido granular. En forma simultánea con la Angiogénesis, comienza la acumulación de fibroblastos dos a cinco días después de la herida. Así, el final de la primera semana, los fibroblastos son las células que se presentan con mayor abundancia en la cicatriz. La fibroplasia finaliza luego de unas dos a cuatro semanas luego de ocurrida la herida.²⁰

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 (a 5- β 1) y TGF β (Factor de crecimiento transformante beta 1). 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 (factor de crecimiento epidérmico); 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 (factor de crecimiento derivado de plaquetas/ factor de crecimiento de fibroblastos), 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 (interferón gamma), producido por las células inflamatorias lo estimula a expresar citoqueratina, 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.²⁰

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

¹⁹A 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.²⁰

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Región Ayacucho, Perú.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" que crecen en el Distrito de Ayna San Francisco, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho a 627 msnm.

3.2.2. Muestra

2,5 kg de hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" recolectada en el distrito de Ayna San Francisco, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.

3.3. Unidad Experimental

30 ratones albinos, *Mus musculus*, machos, de 2 meses de edad y de 20 – 25 g de peso, adquiridos del Instituto Nacional de Salud - Centro Nacional de Productos Biológicos – Lima.

3.4. Procedimiento metodológico y recolección de datos

3.4.1. Recolección de la muestra

Las muestras de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" fueron recolectadas al azar, durante el mes de abril del distrito de Ayna San Francisco, provincia de La Mar del departamento de Ayacucho; fueron transportadas al Laboratorio Farmacognosia, donde fueron seleccionadas las hojas y secadas al medio ambiente, previamente acondicionada, teniendo como base papel periódico, fue cambiada constantemente y volteando la muestra para un secado uniforme, evitando el deterioro por la humedad y separando aquellas que cambien de color o muestren signos de alteración.

Para la identificación taxonómica se emplearon muestras con flores y hojas lo que corresponde a cada planta, lo cual se realizó en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas, con certificación a cargo de la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

3.4.2. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”

Una vez desecada las hojas de *Lisianthus alatus* se procedió a molerlas utilizando el molino de cuchillas obteniéndose un polvo fino de kimsa cucho y de peso aproximado 500 g.²¹

Obtención del extracto hidroalcohólico

Los 500 g de muestra seca y pulverizada de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho” en estudio, se maceró por siete días con etanol de 80°, en dos botellas con capacidad de 2 L, protegidas de la luz.²¹

Concentración de la muestra

La muestra obtenida de las botellas se filtró al vacío y se concentró a presión y temperatura reducida en un rotavapor, finalmente hasta sequedad en una estufa a temperatura no mayor de 50°C, hasta llegar a un 10 % de sólidos totales obteniéndose 80 g de extracto concentrado de kimsa cucho.²¹

3.4.3. Identificación fitoquímica del extracto

La reacción de identificación se realizó siguiendo la metodología propuesta por Miranda (2000).²²

3.4.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”

a) Determinación del contenido de humedad de las hojas

Se pesó 2 g de muestra con desviación permisible de 0,5 mg y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y se deseco a 105 °C durante 3 horas hasta masa constante. La cápsula se colocó en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.^{21, 22}

(Anexo 11)

Cálculo:

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 10$$

Dónde:

Hg : Pérdida de peso por desecación (%)

- M : Masa de la cápsula vacía (g)
 M₁ : Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)
 M₂ : Masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)
 100 : Factor matemático

b) Determinación de las cenizas totales de las hojas

Se pesó no menos de 2,0 g de muestra, con una desviación permisible de 0,6 mg en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C durante 2 horas. Se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5 mg.^{21, 22} (Anexo 11)

Cálculo:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

- C : porcentaje de cenizas totales en base hidratada.
 M : Masa del crisol vacío
 M₁ : Masa del crisol con la porción de ensayos (g)
 M₂ : Masa del crisol con la ceniza (g)
 100 : factor matemático

a. Determinación de las características organolépticas del extracto

Olor: Se determinó empleando una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo, un extremo de esta se introdujo en la muestra de ensayo. Se olió y determinó si corresponde con las características del producto. Los términos para describir los olores del extracto atomizado son: aromático, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc.²¹

Color: Se colocó la muestra en un tubo de ensayo hasta las tres cuartas partes para de esta manera se logre observar el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.²²

Sabor: Se tomó una cantidad suficiente y se transfirió a una luna de reloj, luego se hizo contacto con la lengua, como resultado determinamos el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc.)²¹

c) Determinación de la solubilidad del extracto

Se colocó 1 g de extracto hidroalcohólico *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" en un tubo de ensayo y se añadió 1 mL de disolvente (agua, etanol y metanol), se agitó y se observó bajo los indicadores de soluble, poco soluble e insoluble.²¹

(Anexo 11)

d) Determinación del pH del extracto

La medición del pH se realizó empleando el equipo de peachimetro, antes de proceder a medir el pH, se calibró y verificó el mismo con buffer de pH 4, 7 y 10.

La reconstitución de la muestra fue de la siguiente manera, se pesó 1g del extracto hidroalcohólico y se hizo una dilución con 10 mL de agua destilada, una vez así se midió el pH y se registró el resultado obtenido como pH del extracto hidroalcohólico.²² (Anexo 11)

3.4.5. Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho"

Se gelificó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" (Anexo N° 6); con la finalidad de que exista una mejor adherencia, permanencia y absorción del extracto en la zona de sutura en los ratones en el test de cicatrización. La gelificación se realizó disolviendo 1 g de la muestra (extracto hidroalcohólico concentrado) en 40 mL de agua destilada; luego se añadió agua destilada c.s.p 100 mL y se procedió a calentar, para luego añadir 2 g de carboximetilcelulosa.

3.4.6. Procedimiento experimental de la evaluación del efecto cicatrizante

Método experimental: El método que se usó fue propuesto por Howes E., que se basa en el fundamento de test de cicatrización.²³

Test de Cicatrización: Es la medida de la fuerza de tensión ejercida y necesaria para abrir una herida incisa de 1cm. de largo, realizada en el tercio superior del lomo del ratón.²³

Procedimiento:

- Se depiló el lomo del ratón en un área aproximada de dos centímetros cuadrados, esto se realizó 24 horas antes con el fin de descartar una reacción alérgica a la crema depiladora.
- Se pesó a los ratones y se colocaron en jaulas individuales.
- Se anestesió con halatal 74 mg/kg; vía SC para una buena manipulación.
- Luego se realizó la incisión de un centímetro de largo en el lomo del ratón, previamente la zona se desinfectó.

- Después se afrontó los bordes de la herida y se realizó la sutura con dos puntos y nudo triple.
- Se aplicó la primera dosis de tratamiento a la unidad experimental, y se repitió cada 8 horas, por un periodo de 4 días.
- Pasado los 4 días se procedió a sacrificar al ratón con una sobre dosis de Halatal.
- Al momento de quitar el punto de sutura se colocó al animal en posición de cubito ventral sobre el aparato dinamómetro.
- Se insertó las agujas del aparato de dinamómetro a 0.5 cm de los bordes de la herida y se dejó caer agua al vaso, hasta que genere la tensión que abra la herida en toda su longitud.

El porcentaje de actividad se halló por la siguiente fórmula:

$$\% EC = \frac{X_{tto} - X_b}{X_b} \times 100$$

Donde,

%EC : Porcentaje de efecto cicatrizante.

X_{tto} : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con los extractos

X_b : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (blanco).

3.5. Diseño de investigación

Se empleó un diseño con post prueba y grupo testigo, para lo cual se clasificó en cinco grupos experimentales, cada uno con seis ratones distribuidos al azar, realizándose así seis repeticiones para cada grupo:

Grupo 1: Control; gel sin la especie vegetal en estudio.

Grupo 2: Dermaclin plus al 1% (fármaco de referencia).

Grupo 3: Extracto hidroalcohólico de hojas al 1% de *Lisianthus alatus* Aub. "kimsa cucho".

Grupo 4: Extracto hidroalcohólico de hojas al 2% de *Lisianthus alatus* Aub. "kimsa cucho".

Grupo 5: Extracto hidroalcohólico de hojas al 4% de *Lisianthus alatus* Aub. "kimsa cucho".

El diseño se diagrama de la siguiente manera:²⁴

RG ₁	X	O _x (grupo con tratamiento)
RG ₂	-	O ₋ (grupo sin tratamiento)

3.6. Análisis de datos

La diferencia significativa existente entre los tratamientos se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 95%. Las comparaciones para los tratamientos se realizaron con la Prueba HSD de Tukey, y frente al Dermaclin plus al 1 % con la prueba de Dunnett. Se realizó el uso del software estadístico SPSS, versión 20,0.

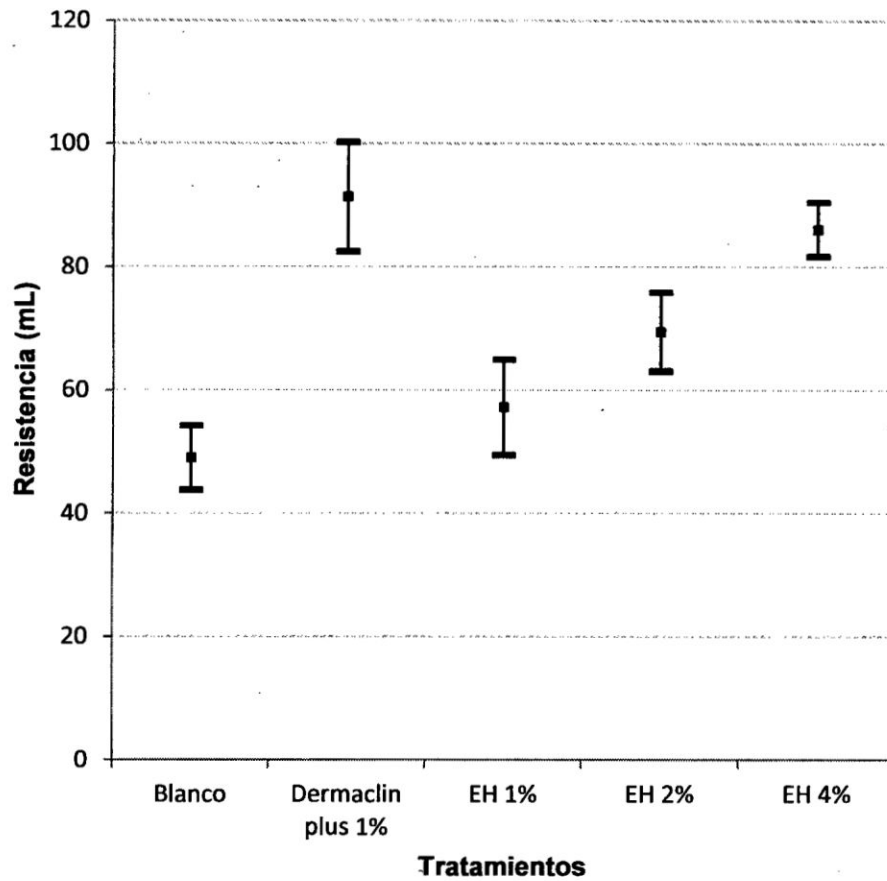
IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman – Burchard	++	Coloración verde oscuro
Catequina	Carbonato de sodio + luz Uv	++	Coloración verde carmelita a la luz UV
Resinas	Agua destilada	+	Precipitado
Azucares reductores	Fehling	+	Precipitado rojo vino
Saponinas	Espuma	++	Formación de espuma
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	+	Coloración rojo – vino
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración rojo

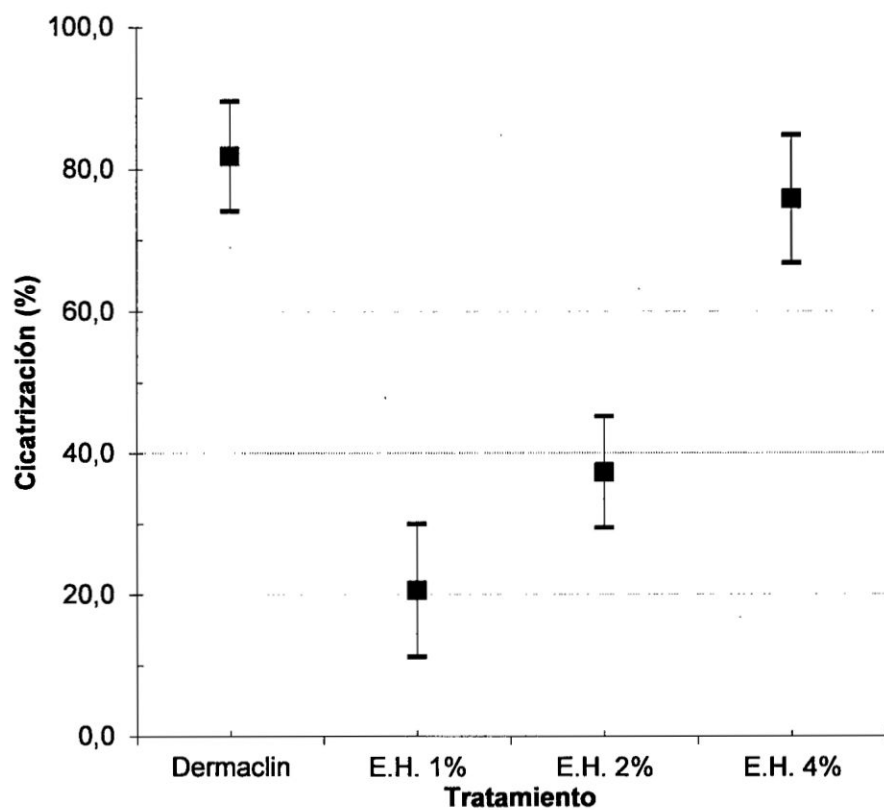
Leyenda:

- (+) : Poco
- (++) : Moderado
- (+++): Abundante



EH = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho"

Figura 3: Promedio de resistencia a la tensión (mL) para evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", frente al Dermaclin plus 1 % y blanco ($p = 2.16 \times e^{-11}$). Ayacucho 2016.



EH = Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho"

Figura 4: Porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" frente al Dermaclin plus 1 %. Ayacucho 2016.

V. DISCUSIÓN

La cicatrización es un proceso muy complejo y dinámico que involucra la participación de diversos eventos celulares y bioquímicos para llevar a cabo la reparación del tejido lesionado. Entre los eventos celulares involucrados que realizan, los fibroblastos, principal célula de la reparación, está la migración, la proliferación, la adhesión y la diferenciación fenotípica, entre otros.²⁵

La cicatrización es un proceso que ocurre normalmente en los diferentes órganos y tejidos, sin embargo, debido a diferentes factores principalmente infecciones, isquemia, hipoxia, anormalidades metabólicas como diabetes, inmunosupresión y condiciones como malnutrición, edad, daño al tejido; entre otros, la cicatrización no se lleva de manera adecuada, prolongándose el tiempo de cierre y causando complicaciones tan severas como la pérdida de extremidades e incluso la muerte. Debido a esto, personas que presentan alguna de estas complicaciones requieren el uso de agentes que faciliten la cicatrización.²⁶

Los estudios de cicatrización son dificultosos por la variabilidad en las heridas. Existen numerosos factores que pueden influir en el fracaso de los ensayos, como lo son el tamaño de la herida, la profundidad, la localización, la vascularización, la duración, el estado nutricional, etc. Por toda esta variabilidad, se debe incluir un gran número de experimentación en el estudio. Sin embargo, en contraste con esto, todas estas condiciones pueden ser controladas en los estudios con animales de experimentación.²⁷

Las plantas son una fuente enorme de moléculas con principios activos frente a diferentes patógenos, células, padecimientos, etc., éstas se han estudiado como fuente de agentes terapéuticos debido a sus efectos benéficos que han demostrado tener. Entre estos encontramos a la cicatrización de heridas, en donde se ha visto que actúan en una o más etapas de dicho proceso. Entre las

moléculas que se han identificado de diferentes plantas que participan en el evento de cicatrización están los metabolitos pertenecientes a las familias de los taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos, naftoquinonas, alcaloides y biomoléculas, lo que hace que en la medicina tradicional sean ampliamente utilizadas.²⁸

En este estudio se evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", perteneciente a la familia Gentianaceae. En un estudio etnobotánico realizado por Palacios J. (1997), menciona que los indígenas de las cuencas del Amazonas y del Río Negro utilizan la planta para tratar heridas en la piel, infecciones dermatológicas causadas por hongos e infecciones vaginales.¹¹

Por lo cual, primero se realizó un análisis fitoquímico para identificar los principales metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", utilizando pruebas colorimétricas. Los resultados obtenidos señalaron la presencia de triterpenos y/o esteroides, catequinas, flavonoides y saponinas (++) , resinas, azúcares reductores y compuestos fenólicos (+) mostrados en la tabla 1 respectivamente. Lock,²⁹ demostró y corroboró que los metabolitos secundarios responsables del efecto cicatrizante, son específicamente los flavonoides y compuestos fenólicos a ello se suma que han demostrado ser importantes en la cicatrización de heridas debido a sus propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias y actividades antibacterianas.⁵ Kuklinski,³⁰ nos menciona que algunos metabolitos secundarios coadyuvan a la acción de la luteolina y quercetina (árnica), los cuales participan en el proceso de cicatrización. La presencia de flavonoides, catequinas y taninos, confieren la propiedad cicatrizante, por tener capacidad de regenerar los tejidos. Los flavonoides pueden ser un buen aliado para los problemas de coagulación, previniendo la trombosis y las hemorragias, fortaleciendo los vasos sanguíneos y dándoles flexibilidad, también actúan como antioxidantes ya que ayuda a que la vitamina C mantengan equilibrados nuestros niveles de colágeno (sustancia que da elasticidad a nuestra piel), igualmente ayudan a protegernos de las infecciones. Los procesos de curación de heridas comprenden la coagulación, la inflamación, la proliferación, la formación y la acumulación de tejido fibroso, el depósito de colágeno, la epitelización, la contracción de la herida con la formación de tejidos de granulación, remodelación y maduración. Los constituyentes de los extractos de plantas modulan una o más de las etapas

anteriores; los saponósidos en particular actúan como estimuladores de la producción del colágeno.⁶ La presencia de los ácidos grasos: palmítico, esteárico, oleico, linoléico, y linolénico ayudan en la síntesis de colágeno, incitan a la fabricación de citosina, además incrementan la cohesión celular³¹

En el anexo 16, se presentan los parámetros fisicoquímicos del *Lisianthus alatus* Aubl; donde se evaluaron con muestra de hojas de la planta el porcentaje de humedad 13,55%, encontrándose en los valores del rango (ref. 8 – 14) y el porcentaje de cenizas totales 3,004% encontrándose también dentro de los valores establecidos (ref < 5), dadas por Miranda²², ambas evaluaciones nos conlleva a poder deducir la viabilidad de la planta en cuanto a su producción, el valor de las cenizas totales nos indica sobre los elementos inorgánicos presentes en la planta y observando el valor dado anteriormente podemos deducir que la planta no presenta contaminantes ni metales pesados que puedan afectar su viabilidad.²² En cuanto a las características organolépticas del extracto presenta color pardo oscuro, olor *sui generis*, un sabor amargo, soluble en agua, metanol y poco soluble en etanol, pH de 4,96. Nuestro extracto resultó poco soluble en etanol, pero soluble en agua y metanol, puede deberse a la polaridad y está dada por la constante dieléctrica la cual tiene relación con la ruptura de los compuestos químicos, como en este caso el que tiene mayor constante dieléctrica son el agua y el metanol, por ende la solubilidad es mejor en estos.³⁰

En la figura 3, se presentan las medidas de tensión en mililitros, capaz de abrir la herida cicatrizada en los ratones. Observando que a mayor resistencia nos indica una mayor cicatrización. Al producirse la herida se produce una respuesta inflamatoria que induce y modula la proliferación vascular y fibroblástica. Tras estos fenómenos proliferativos tiene lugar la síntesis y maduración del colágeno que proporciona la resistencia a la tracción propia de la cicatriz.³² Resulta que el volumen promedio realizado al cuarto día por efecto del dermaclin plus 1% fue de 91,35±3,4 mL, seguido el extracto al 1% de 57,18±3,0 mL, extracto al 2% fue de 69,45±2,4 mL, extracto al 4% fue de 86,07±1,7 mL y blanco (agua destilada) 48,97±2,0 mL. Con estos resultados observamos que el extracto al 4% es óptimo para la actividad cicatrizante que es similar al valor del fármaco de referencia.

En la figura 4, se presentan el porcentaje de actividad de los diferentes tratamientos, siendo los resultados con el extracto hidroalcohólico de hojas al 1% de 16,78%, extracto hidroalcohólico de hojas al 2% de 41,83% y extracto hidroalcohólico de hojas al 4% de 75,77% de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa

cucho". Siendo este último el de mejor actividad cicatrizante. Todas las heridas siguen el mismo patrón de tensión. Al final de la primera semana la resistencia es de un 10% de la que tiene el tejido sano, pero luego aumenta rápidamente en el cuarta semana.³³ Es un tanto difícil determinar específicamente en qué etapa o fase de la cicatrización interviene ya que en la actualidad se conoce de muchos compuestos químicos que participan en el proceso de cicatrización, es en este sentido que, Krasnow y Galko³⁴ mencionan que "la cicatrización de heridas no funciona como una cadena de baldes para apagar un incendio, es más bien como un departamento de incendios moderno con distintos bomberos que responden y contienen distintas partes del daño, al mismo tiempo que cada uno le avisa a los demás cómo va su tarea y si necesita ayuda". En el extracto encontramos metabolitos como flavonoides que son los primeros que participan en la cicatrización, ya que detienen la hemorragia y fortalecen la vascularización como se mencionó anteriormente, segundo entran los triterpenoides y esteroides activando su propiedad antiinflamatoria junto a los flavonoides, y tercero las saponinas quienes ayudan en la producción del colágeno, todos estos actúan simultáneamente para el proceso de la cicatrización.

El análisis de varianza, es una técnica mediante el cual la variación total presente en un conjunto de datos se distribuye en varios componentes. Con cada una de estos componentes se asocia a una fuente específica de variación de modo que en el análisis es posible averiguar la magnitud de las contribuciones de cada una de estas fuentes a la variación total.³⁵ En base a lo anterior se determinó la diferencia que existe entre los grupos de tratamiento (Anexo N° 17), obteniéndose una diferencia significativa de actividad cicatrizante ($p = 7,01 \times 10^{-8}$).

El análisis de varianza conduce a un rechazo de la hipótesis nula de no diferencia entre las medias de los grupos, surge de manera natural la pregunta que se refiere precisamente a cuáles parejas de medias son diferentes.³⁵ Para responder a esta pregunta se usó el análisis estadístico de Tukey (anexo 18), en la cual se determinó que el tratamiento del blanco es diferente al tratamiento extracto hidroalcohólico de hojas al 1%, extracto hidroalcohólico de hojas al 2% son estadísticamente significativos; el dermaclin plus al 1% y el extracto hidroalcohólico de hojas al 4% de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", no hay diferencias estadísticamente significativas, por lo que la actividad cicatrizante del extracto estudiado al 4% es comparable con la actividad cicatrizante provocado

por el dermaclin plus al 1%. Por lo que el mayor efecto cicatrizante en los extractos lo presenta el extracto al 4%, posiblemente se deba a una proporción mayor de componentes presentes en el extracto; en la cual la acción farmacológica es mayor a la suma de dosis de cada fármaco.³⁶

En otras investigaciones el efecto cicatrizante es mayor a menores concentraciones, en el presente trabajo se ha demostrado lo contrario, el extracto hidroalcohólico presenta mayor efecto cicatrizante a mayor concentración. La actividad cicatrizante podría deberse a la presencia de dihidroxiisoflavonas, trihidroxiisoflavona y taninos presentes que reaccionarían con las células de la piel injuriada interviniendo en el proceso de la cicatrización.³⁷ Estos metabolitos mencionados cuando se presentan en mayor concentración producen un efecto de saturación los cuales disminuyen su actividad cicatrizante sobre todo por la presencia de taninos o compuestos fenólicos, ya que estos precipitan las proteínas presentes en la piel. En el trabajo realizado no hay presencia de taninos o compuestos fenólicos o son muy pocas por lo cual que a mayor concentración presenta mejor su efecto cicatrizante.

El análisis estadístico de ANOVA nos ayuda a saber si existe diferencia significativa entre los datos analizados, esto se logra observando el valor de F, se dice que existe diferencia significativa cuando el valor de F es mayor que el valor de F crítico. En el (anexo 16), el valor de F es de 32,462 mientras que el F crítico es de 4,36 por lo que se puede decir que existe diferencia significativa entre los datos, afirmando lo explicado anteriormente. Por lo cual, se realizó un test post confirmatorio aplicando el método de Dunnett.

El método de Dunnett (anexo 19) se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para las diferencias entre la media de cada nivel de los factores y la media de un grupo de control. Si un intervalo contiene cero, entonces no existe diferencia significativa entre las dos medias comparadas.³⁸ Con ello podemos afirmar que los extractos 4 % y el Dermaclin plus 1 % presentan un intervalo cero de significancia frente al blanco, con el extracto al 2 % presenta un nivel de significancia 0,001 frente al blanco y el extracto al 1 % presenta una significancia de 0,327 frente al blanco, por lo tanto, el que presenta una actividad cicatrizante es el extracto al 4 % y el Dermaclin plus 1 %.

La evaluación de la resistencia de las heridas en proceso de cicatrización fue reportada por primera vez en 1929 por Howes y col.³⁹ En 1965, fue investigada la cicatrización normal en piel de rata, evaluando la resistencia a la tensión como

porcentaje del valor de la piel no lesionada, frente a los días después de la incisión. En 2 días, la resistencia a la rotura en heridas incisas en piel de rata está entre 50–100 g/cm. En este momento la herida apenas contiene bandas de fibrina, algunas asas capilares, leucocitos y unos cuantos fibroblastos; pero la superficie epitelial consta de una hoja confluyente de células. Estudios experimentales indican que las fuerzas intercelulares, la adhesión de las proteínas globulares y la polimerización de la fibrina, son los elementos que originan fuerzas de esta magnitud.⁴⁰ En el experimento realizado se usó la resistencia a la rotura mediante el volumen, en el cuarto día, el líquido usado fue agua el cual tiene una densidad igual a 1; por lo cual su peso es 1 g, el volumen promedio, por efecto del dermaclin plus 1% fue de $91,35 \pm 3,4$ mL, seguido el extracto al 1% de $57,18 \pm 3,0$ mL, extracto al 2% fue de $69,45 \pm 2,4$ mL, extracto al 4% fue de $86,07 \pm 1,7$ mL y blanco (agua destilada) $48,97 \pm 2,0$ mL (Anexo 15); los cuales se encuentran dentro del parámetro (50-100 g/cm).

Hay factores que pueden retardar el proceso de cicatrización como la presencia de bacterias en la herida, por nutrición inadecuada, por un estado patológico coexistente y por factores fisiológicos.⁴¹ En el experimento realizado, se usó seis ratones por grupo, lo cual esto es inadecuado para el experimento ya que estos animales entre ellos se pueden lastimar, morder, arañar y así no permitir una buena cicatrización, por lo que se sugiere trabajar individualmente para que no haya interferencias.

Para el extracto hidroalcohólico principalmente se utilizan extracciones de mezclas hidroalcohólicas (agua y alcohol etílico) en proporciones variables. La utilización de mezclas variables de agua y alcohol permite seleccionar las sustancias sin interés farmacológico así como separar los principios activos entre sí.⁴² Estos extractos, antes de ser utilizados en modelos experimentales, pueden concentrarse para eliminar el solvente de extracción totalmente en el caso que interfiera con la acción farmacológica o parcialmente para reducir el volumen y de esa manera facilitar la administración.³⁰ Para esta investigación se utilizó el alcohol a 80 ° (225 mL de agua destilada y 1000 mL de alcohol 96 °), en un total de 2 Litros; se maceró por siete días y se concentró en estufa a temperatura de 50 °C, presentándose con sedimento, color y aroma característicos de la planta. El continuo desarrollo de nuevos productos destinados a favorecer la integridad cutánea nos ofrece una amplia gama de posibilidades. Realizar la elección

correcta de acuerdo con las necesidades del paciente permitirá alcanzar mejores resultados.⁴³

Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio validan la propiedad cicatrizante de esta planta y su uso tradicional para el tratamiento de heridas. Demostrando que a concentraciones bajas tiene efecto en la reparación de heridas. Sin embargo, se requieren estudios más amplios y profundos para obtener mejores conocimientos de sus propiedades terapéuticas.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" tiene efecto cicatrizante.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", presenta metabolitos secundarios como son: triterpenos y/o esteroides, catequinas, flavonoides y saponinas (++), resinas, azúcares reductores y compuestos fenólicos (+).
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas al 4% *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", tiene un efecto cicatrizante 75,77% que estadísticamente es similar al Dermaclin plus al 1% (fármaco de referencia) 86, 56%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Proseguir con el estudio del efecto cicatrizante de la *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" aislando el metabolito o la fracción responsable de este efecto y determinar su mecanismo de acción.
2. Realizar estudios de formulación de formas farmacéuticas semisólidas de la *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", para su empleo como cicatrizante.
3. Continuar con los estudios y comprobar otras propiedades farmacológicas atribuidas a esta especie vegetal.
4. Realizar estudios de toxicidad a la piel, del extracto hidroalcohólico de la *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho"

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Menéndez AB, Parra AL, Pavón VB, Domínguez CC, Martínez OV, Sardinas IG. Actividad Cicatrizante y Ensayos de Irritación de la Crema de *Calendula officinalis* al 1%. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2007; 26(6):24.
2. Nayak BS, Pereira LMP. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2006; 6(1):41.
3. Magallanes, C. Estudio ecológico y etnobotánico de plantas medicinales y alto andinas de Quinua y Chiara". UNSCH. FCB. Perú. 1994.
4. Domered H, Ölzeir R, Curl S. Phyto – Test of wound healing of *Lisianthus aphyllus*. *J Pharm and Pharmabotanic*. 12 (3):432 - 435.
5. Kaleab A. Evaluation of wound healing and anti – inflammatory activity of rizomes of species of *Lisanthus*. *BMC complementary & alternative medicine*. 2015: 12(2) 341-344
6. Prasanta K, Anjali G. Phyto – Extracts in Wound Healing. *J Pharm Sci*. 2011; 16 (5):760 - 820.
7. Palomino K. Efecto sobre la hiperplasia prostática benigna del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "kimsa cucho". [tesis para obtener el título de Químico Farmacéutica]. Ayacucho. UNSCH. 2014.
8. Obando LH. Estudio de los alcaloides de *Croton draconoides* "Sangre de grado", su actividad cicatrizante y el diseño de una forma farmacéutica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. [Revista en línea]. 2015 [Acceso, febrero 2016]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4262/1/Obando_bl.pdf
9. Vargas C J. Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de *Senna reticulata* (Willd.) H. Irwin and Barneby ("Retama"). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. [Revista en línea]. 2007 [Acceso, febrero 2016]. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2585>
10. Jensen S, Schripsema J. Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. Technical University of Denmark. [revista on line] 2010. [Acceso noviembre 2015]; 33(6): 573-631. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/books/gentianaceae/BDB7A314E0C8A36547C47E830741D675>
11. Palacios J. Plantas medicinales nativas del Perú. Lima: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONCYTEC; 1997.
12. Cronquist, A "The evolution and classification of flowering plants" de Universidad de Michigan, Edit New York Botanical Garden, Edic. 2, ilustrada 24 Feb 2010 SBN0893273325, 9780893273323
13. Sanchez, J; Moreno, B; Cuca L. Two new secoiridoids from *Chelonanthus alatus* (Aubl.) Pulle (Gentianaceae)" *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2013,12 (2): 186,195 0717 7917. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85625780008>
14. Li Min H, Lv Li J. terpenoids, flavonoids an xanthones from *Gentianella acuta* (Gentianaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* [revista on line] 2009. [Acceso febrero 2016]; 37(9): 497-500.
15. Vidari A, Cater K, Malis E. Studies one the chemical constituents of *Gentianaceae*. *Journal of medicinal plant research*. [revista on line] 2009. [Acceso marzo 2016]; 6(33): 4825-4831.
16. Struwe, L.; Albert, V., *Gentianaceae: Systematics and Natural History*. In Primera edición ed.; Cambridge University Press: 2005; pp 137-190, 573-

- 631Suh H, Lee K, Kim S, Shin M, Park S. Determination of singlet oxygen quenching and protection of biological systems. *J Photochem Photobiol B*. 2011;102 (2):102-7.
17. Curtis M. *Farmacología Integrada Fisiopatología y enfermedades de la Piel*. 4a ed. Harcourt.- España; 2008.
 18. Geneser F. *Histología*. 5aed. Médica Panamericana. Buenos Aires; 2006.
 19. Duce A. *Patología Quirúrgica*. Editorial 2a ed. Manuel Moderno El sevier-España; 2004.
 20. Hernández GA. Fisiología de la cicatrización cutánea. *Revista Facultad de Salud- RFS*. 2015. 2(2): 60-78.
 21. Villar del Fresno A. *Farmacognosia General*. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 1999.
 22. Miranda M, Cuellar A. *Manual de Prácticas de Laboratorio-Farmacognosia y Productos Naturales*. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana; 2000.
 23. Arroyo, J.; Rojas, J. y Chenguayen, J. 2004. "Manual de modelos experimentales de farmacología". Primera Edición. Perú.
 24. Hernández R, Fernández C, Baptista P. *Metodología de la investigación*, 4ª edición, Barcelona España, Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 2008. pág. 189 – 191.
 25. Fredy O, Contreras S, Blanca G. *Fisiopatología conceptos básicos* universidad central de Venezuela. Edit. McGraw H INTERAMERICANA Venezuela. ILL, Edicion 2003. pag 56-57
 26. Oriana H. Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuotánico de la planta *Bacopa procumbens* en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón. IPN Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía México DF. [revista on line] 2010. [Acceso julio 2016]; Disponible en: <http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/7502/1/DETEREFECTO.pdf>
 27. Verdugo M. Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (*Jungia cf. rugosa*). Universidad de Cuenca. Ecuador. [revista online] 2008. [Acceso julio 2016]; Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20266/1/TESIS.pdf>
 28. Esperanza G. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. [revista online] 2015. [Acceso julio 2016]; Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4576/1/56T00591%20UDCTFC.pdf>
 29. Lock O. "Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales". Fondo Editorial PUCP Lima-Perú. 1994.
 30. Kuklinski C. *Farmacognosia*. Barcelona: Omega, S.A.; 2003.
 31. Martínez F. y Pareras E. La efectividad de los ácidos grasos hiperoxigenados en el cuidado de la piel perilesional, la prevención de las úlceras por presión, vasculares y de pie diabético. España [revista online]. 2009, [acceso, julio 2016]. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/geroko/v20n1/41helcos.pdf>
 32. Mujica P. Portugal V. García I. López I. Bilbao J. Méndez J. "Metodología para el estudio de las primeras fases del proceso de cicatrización". [revista online]. 2004 [acceso, julio 2016]. Disponible en: www.oc.lm.ehu.es/Laboratorio/Publicaciones/PDF%20articulos/1992%20CirEsp4.pdf

33. Agulló, J. "Estudio experimental de la cicatrización en artroplastia de resección de la cadera". Tesis para optar el título de doctor en medicina y cirugía. Universidad de Barcelona. [revista online]. 2007 [acceso, julio 2016]. Disponible en:
http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/1094/01.JLAF_INTRODUCCION.pdf?sequence=2
34. Krasnow, M. y Galko, M. "Public Library of Science Biology". Agosto 2004.
35. Daniel, W. "Bioestadística: Base para el análisis de las Ciencias de la Salud". Editorial Limusa. México. 1996.
36. Alvarado, J. "Manual de farmacología". Segunda Edición. Editorial Apuntes Médicos del Perú. Lima. 1999.
37. Vargas C. Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de *Senna reticulata* (Willd.). Irwin & Barneby ("retama"). Tesis para optar el Grado de Magisterg. UNMSM. Lima – Perú. [revista online]. 2007 [acceso, julio 2016]. Disponible en:
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2585/1/Vargas_cc.pdf
38. Soporte de Minitab® 17. Método de Dunnett para comparaciones múltiples [revista online]. 2016 [acceso, julio 2016]. Disponible en:
<http://support.minitab.com/es-mx/minitab/17/topic-library/modeling-statistics/anova/multiple-comparisons/what-is-dunnett-s-method/>
39. Howes E. The healing of wounds as determined by their tensile strength. The journal of the American Medical Association. JAMA [revista online]. 1929 [acceso, julio 2016]. Disponible en:
40. Brady R. Curso programado de anatomía y fisiología. 5a ed. Editorial. Mexico: Limusa, 2002.
<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=262836>
41. Guillermo F. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Ratus norvegicus*. UNMSM. Folia dermatol. Peru. 16 – 1. [revista online]. 2005 [acceso, julio 2016]. Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol16_n1/pdf/a03.pdf
42. Osorio E. Farmacognosia. Universidad de Antioquia. España [revista online]. 2014 [acceso, julio 2016]. Disponible en:
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/f1.pdf>
43. Valverde, R. y Turturici M. "Prevención y tratamiento de las lesiones cutáneas en neonatología: ¿cómo elegir el apósito adecuado?". [revista online]. 2005 [acceso, julio 2016]. Disponible en:
<http://www.scielo.org.ar/pdf/aap/v103n3/v103n3a08.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación sistemática de *Lisianthus alatus* Aubl.
"kimsa cucho". Ayacucho 2016



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, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srita. Mercedes, CANAHUALPA CISNEROS**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	GENTIANALES
FAMILIA	:	GENTIANACEAE
GENERO	:	<i>Lisianthus</i>
ESPECIE	:	<i>Lisianthus alatus</i> Aubl.
N.V.	:	"Kimsa cucho"


Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 10 de Febrero del 2016

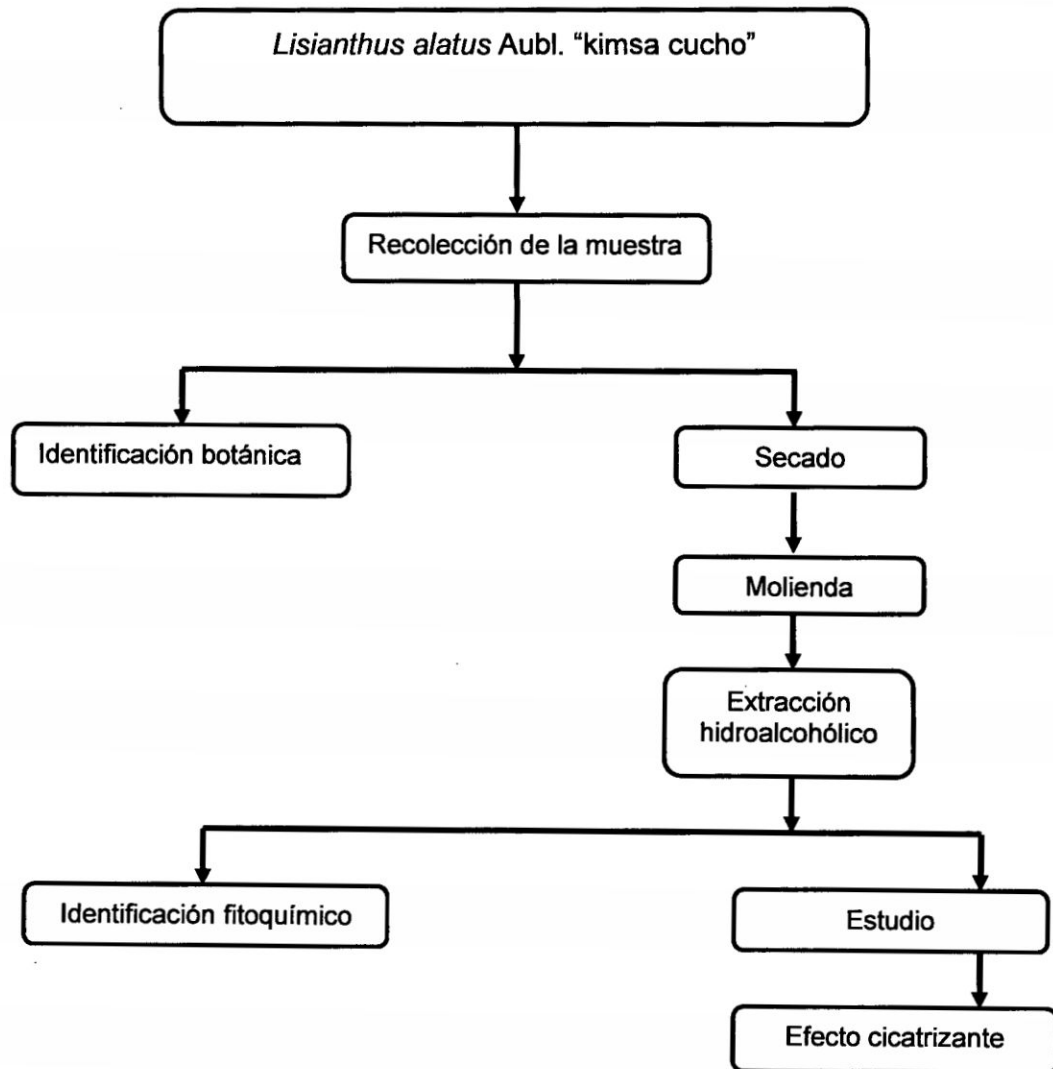
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Laura Aucasime Medina
JEFE

Anexo 2. Certificado Sanitario del Material Biológico. Ayacucho 2016

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO			
CERTIFICADO SANITARIO N°		123-2016	
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M-21-2016
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 40
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 25 a 32 días
Peso	: 15 a 24 gr.	Sexo	: machos
G.R.	: 032774	Destino	: Canahuapa Cisneros, Mercedes
Chorrillos	: 23 de mayo del 2016		Huancayo
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. 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> <p>Chorrillos, 23 de mayo 2016 (Fecha de emisión del certificado)</p> <p style="text-align: right;"> M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586</p> <p>NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>			

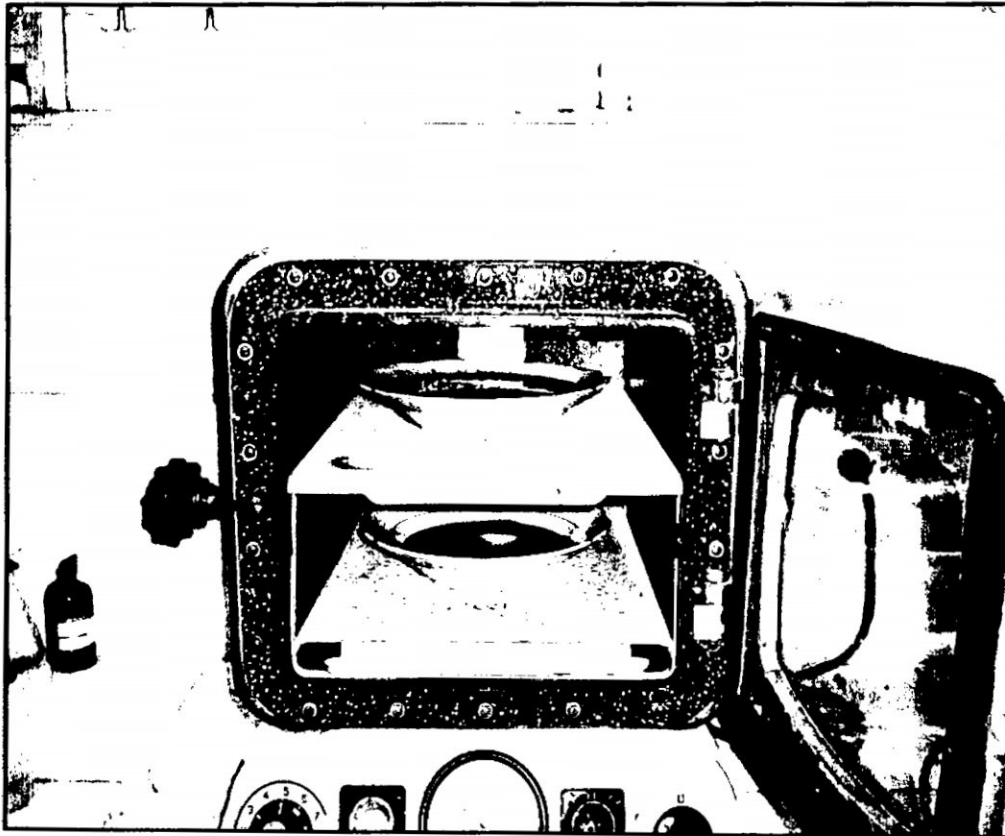
Anexo 3. Protocolo del procedimiento metodológico. Ayacucho 2016



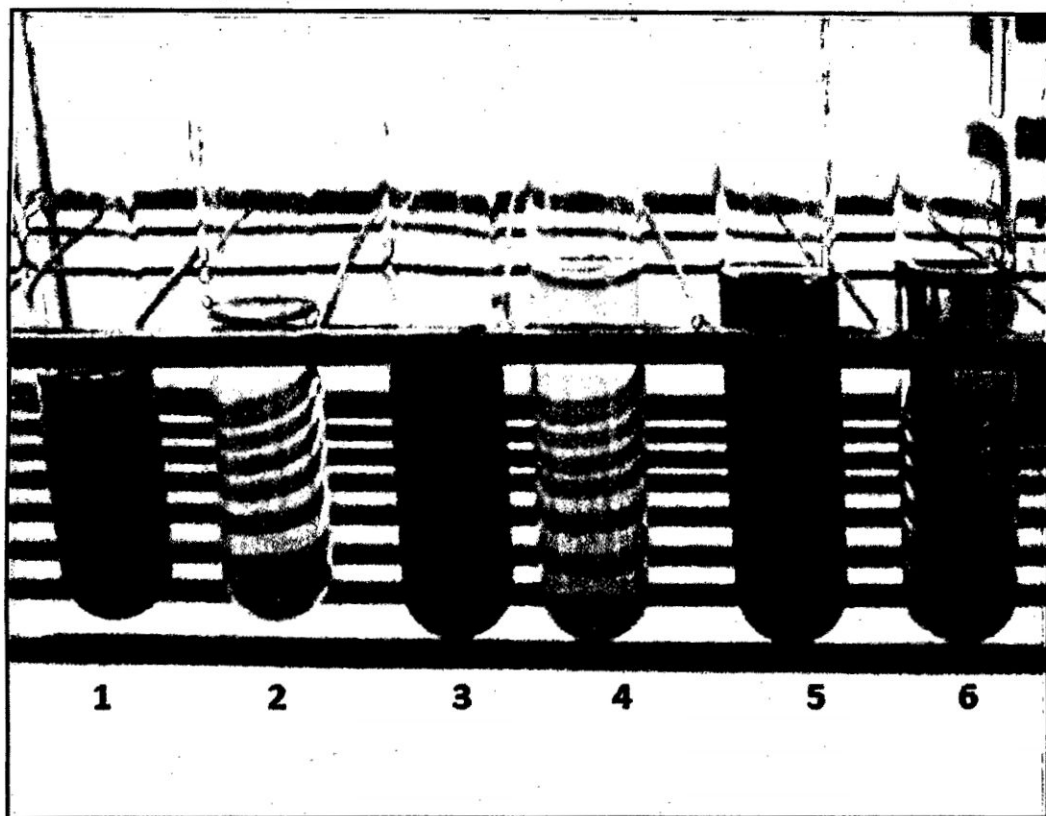
Anexo 4. *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016



Anexo 5. Extracto concentrado hidroalcohólico de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016

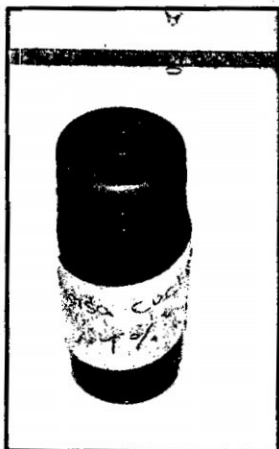


Anexo 6. Identificación Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016.



Leyenda: 1 = Triterpeno y/o esteroide, 2 = Resinas; 3 = Azúcares; 4 = Catequina; 5 = Flavonoides; 6 = Compuestos fenólicos.

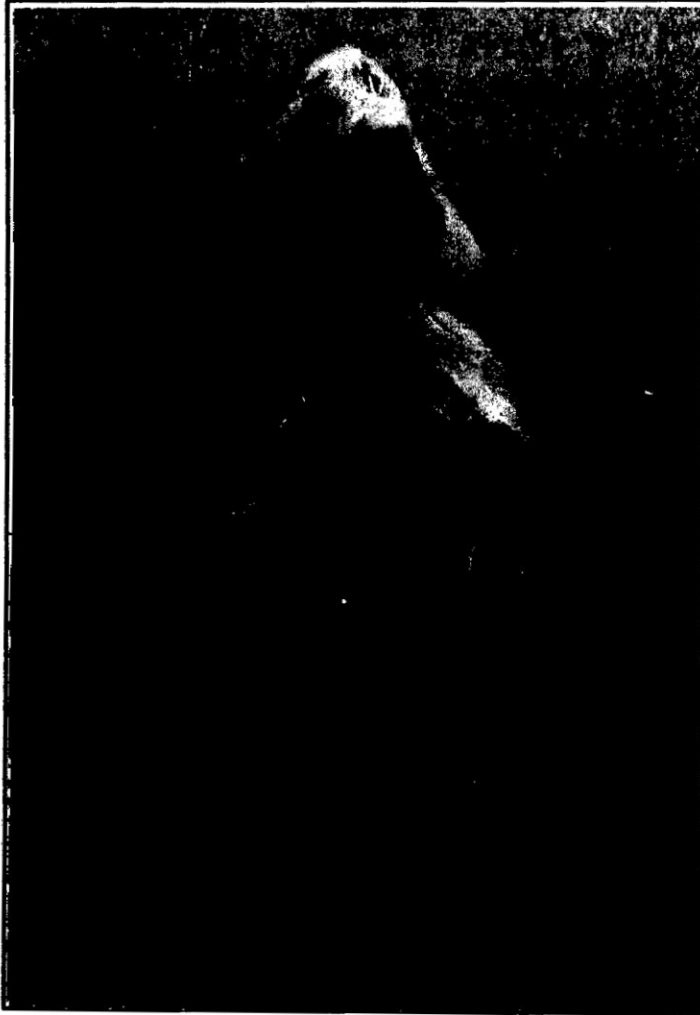
Anexo 7. Extractos concentrados de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016



Anexo 8. Materiales para la depilación e incisión. Ayacucho 2016.



Anexo 9. Ratón depilado y con incisión en el lomo. Ayacucho 2016.



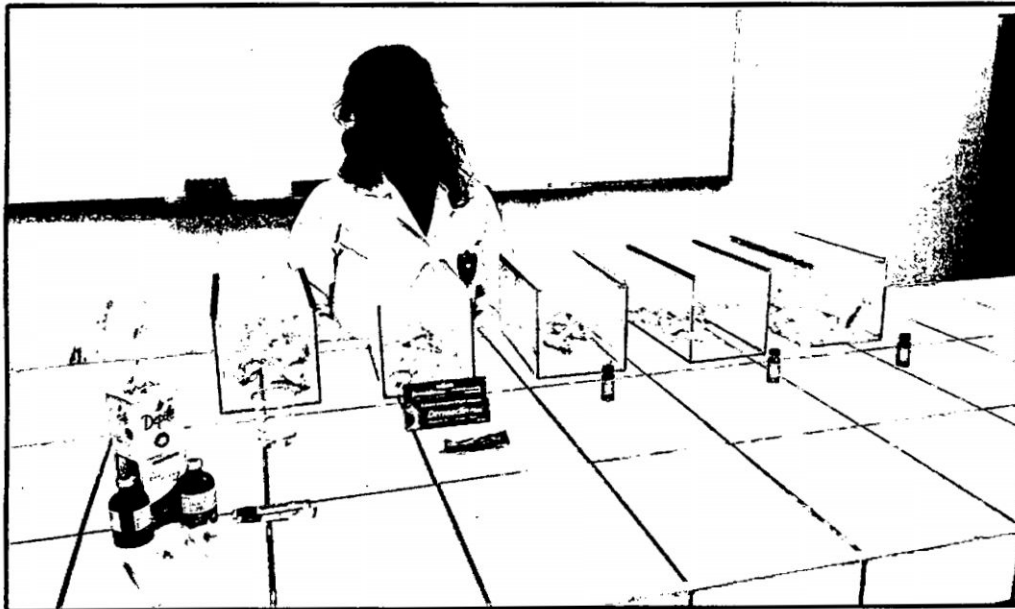
Anexo 10. Sutura del ratón albino *Mus musculus* en el laboratorio de Farmacología – UNSCH. Ayacucho 2016.



Anexo 11: Sutura de dos puntos con nudo triple en el tercio superior del lomo de los ratones. Ayacucho 2016.



Anexo 12: Separación de los ratones por grupos de tratamiento para la evaluación cicatrizante. Ayacucho 2016.



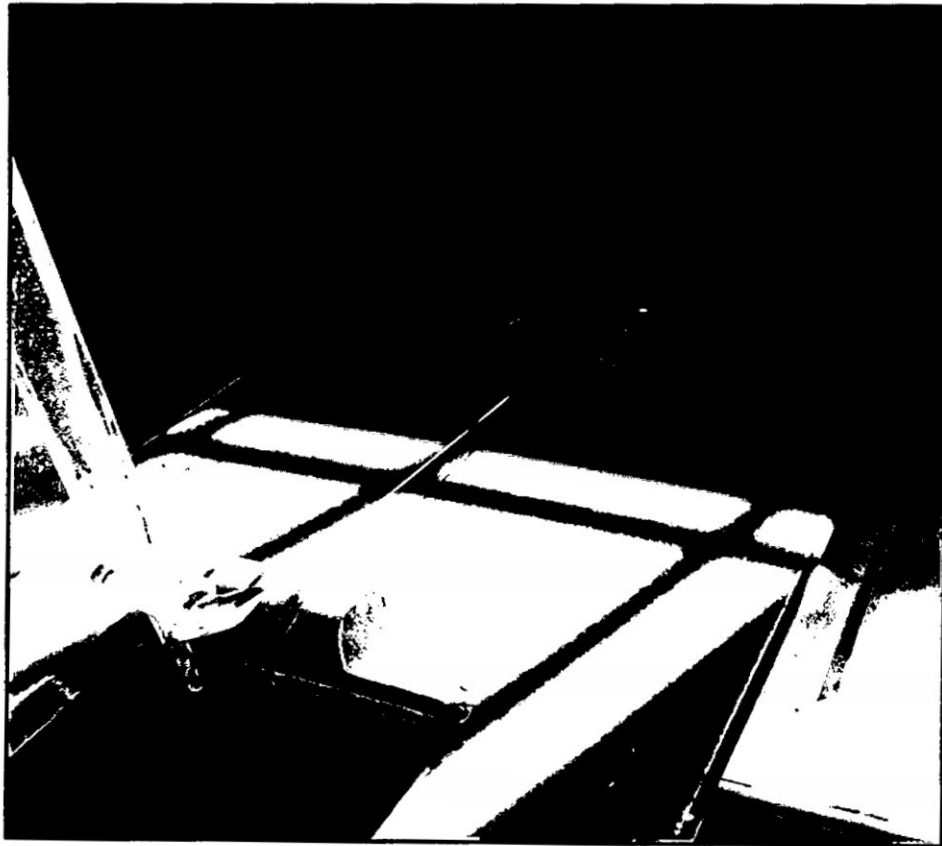
Anexo 13: Tratamiento con el extracto hidroalcohólico de *Lisianthus alatus* Aubl.
"kimsa cucho". Ayacucho 2016



Anexo 14: Tratamiento con el fármaco de referencia (dermaclin plus al 1%).
Ayacucho 2016.



Anexo 15: Resistencia de tensión por volumen ejercida en el lomo del ratón sacrificado, sobre el dinamómetro en el laboratorio de Farmacología – UNSCH. Ayacucho 2016



Anexo 16: Evaluación de parámetros fisicoquímicos de hojas y extracto hidroalcohólico de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho -2016.

Tipo	Parámetros	Resultados	Desviación estándar	% CV
Hojas	Humedad (%) Ref. 8-14	13,55	± 0,00235	± 0,0173
	Cenizas (%) Ref. < 5	3,004	± 0,301	± 10.01
Extracto	Características organolépticas	Color:	pardo oscuro	
		Olor:	<i>sui generis</i>	
		Sabor:	amargo	
	Solubilidad	Agua:	soluble	
		Etanol:	poco soluble	
Metanol:		soluble		
pH		4,96		

Anexo 17: Análisis de varianza de la actividad cicatrizante de las hojas *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho -2016.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	18366,195	3	6122,065	32,462	7,01 x e ⁻⁸
Intra-grupos	3771,809	20	188,590		
Total	22138,004	23			

Anexo 18: Prueba de Tukey del porcentaje de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Lisanthus alatus* Aubl. Ayacucho 2016

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
HSD de Tukey ^a	EH. <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. 1%	6	16,7800	
	EH. <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. 2%	6		41,8317
	EH. <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. 4%	6		75,7667
	St Dermaclin plus 1%	6		86,5567
	Sig.		1,000	1,000
Tukey B ^b	EH. <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. 1%	6	16,7800	
	EH. <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. 2%	6		41,8317
	EH. <i>Lisanthus alatus</i> Aubl. 4%	6		75,7667
	St Dermaclin plus 1%	6		86,5567

Anexo 19: Prueba de método Dunnett de la resistencia con tensión al volumen de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Lisanthus alatus* Aubl. Ayacucho 2016

(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
Dermacilin plus 1 %	Blanco	-42,383	4,008	4,6 x 10 ⁻⁵
Extracto 1%	Blanco	-8,217*	3,633	,327
Extracto 2%	Blanco	-20,483*	3,204	,001
Extracto 4%	Blanco	-37,100,	2,650	1,0 x 10 ⁻⁶

La diferencia de medias es significativa al nivel de 0,05
 Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Anexo 20: Análisis descriptivo de datos obtenidos en el ensayo de la actividad cicatrizante. Ayacucho 2016

Tratamientos	N	Volumen promedio (mL)	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media			
					Límite inferior	Límite superior	Mínimo Máximo	
Blanco	6	48,967	4,9605	2,0251	43,761	54,172	42,4	55,5
Dermacilin plus 1%	6	91,350	8,4722	3,4588	82,459	100,241	79,9	104,5
Extracto 1%	6	57,183	7,3874	3,0159	49,431	64,936	49,9	69,5
Extracto 2%	6	69,450	6,0817	2,4828	63,068	75,832	64,0	80,5
Extracto 4%	6	86,067	4,1884	1,7099	81,671	90,462	78,6	90,4
Total	30	70,603	17,5599	3,2060	64,046	77,160	42,4	104,5

Anexo 21: Matriz de consistencia "kimsa cucho". Ayacucho 2016

Metodología

Título	Problema	Objetivo	Hipótesis	Variable Independiente	Variable Dependiente	Marco teórico
<p>Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho". Ayacucho 2016</p>	<p>¿Tendrá efecto cicatrizante el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho"?</p>	<p>Objetivo general Determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho".</p> <p>Objetivos específicos • Identificar metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho" mediante identificación fitoquímica. • Evaluar el porcentaje de efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho", con (Dermacilin Plus®). • Evaluar los parámetros fisicoquímicos de las hojas y el extracto hidroalcohólico de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho".</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho" tiene efecto cicatrizante.</p>	<p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho" a diferentes concentraciones</p>	<p>Estudio de la quimiotaxonomía y orden farmacológico de las Gentianaceae, entre las especies evaluadas referían al estudio de <i>Lisianthus alatus</i> mostrando la composición química de esta, pudiéndose encontrar iridoides, gentiopicricosido, ácido logánico, flavonoles, xantonas; atribuyendo a esta especie efectos antiinflamatorios y captadores de radicales libres.</p>	
						<p>Población: Hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho" que crecen en el Distrito de Ayna San Francisco, provincia de La Mar, Región de Ayacucho.</p> <p>Muestra: 2,5 Kg hojas de <i>Lisianthus alatus</i> Aubl. "kimsa cucho" que crecen en el Distrito de Ayna San Francisco, provincia de La Mar, Región de Ayacucho</p> <p>Unidad experimental 30 ratones albinos, <i>Mus musculus</i>, machos, de 2 meses de edad y de 20 - 25g de peso, que serán adquiridos del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos-Lima.</p> <p>Procedimiento metodológico Recolección de la muestra Se seleccionarán las hojas intactas; se lavarán con abundante agua y se secarán a la sombra.</p> <p>Obtención del extracto hidroalcohólico. Aproximadamente por una semana.</p> <p>Obtención del extracto hidroalcohólico. 500g de hojas serán molidas en un mortero. Se extraerá por maceración durante 7 días con etanol de 80°. Luego se filtrará y la solución hidroalcohólica se concentrará</p> <p>Tamizaje fitoquímico por Miranda y Cuellar²⁴</p> <p>Test de cicatrización Se fundamenta en la aplicación de una fuerza de tensión ejercida (medida en mililitros) necesaria para abrir una herida incisa de 1 cm de longitud producida en el tercio superior del lomo del ratón.</p> <p>Análisis Estadístico La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 95%. Las comparaciones entre cada tratamiento se harán con la Prueba HSD de Tukey, y frente al estándar con la prueba de Dunnett, para evaluar las diferencias estadísticas al 95% de confianza.</p>
						<p>Fisiología de la cicatrización La cicatrización es un proceso dinámico, interactivo en el cual participan mediadores extracelulares, 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.</p>

Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho"

Autor: Bach. Mercedes Canahualpa Cisneros

Asesor: Dr. Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo

RESUMEN

El presente trabajo de investigación básico experimental se realizó durante los meses de Marzo a Julio 2016, en los Laboratorios de Farmacología y Farmacognosia, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, con la finalidad de determinar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho". La determinación taxonómica se realizó en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga con la colaboración de la Bióloga Laura Aucasime Medina. En la identificación fitoquímica del extracto, se reporta la presencia de triterpenoides y esteroides, catequinas, saponinas, flavonoides, azúcares, taninos, fenoles y aminoácidos. Para determinar el efecto cicatrizante, se usó el método de test de cicatrización descrito por Howes. La investigación se realizó en ratones albinos machos de un peso aproximado de 20 – 25 g. Los ratones fueron clasificados en cinco tratamientos: gel base (blanco), dermaclin plus (fármaco de referencia), extracto hidroalcohólico de hojas al 1%; al 2% y al 4% de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", los cuales fueron gelificados para su administración. Se determinó el efecto cicatrizante de los tres extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho", el extracto al 1% obtuvo una actividad cicatrizante de 16,78% al 2% 41,83% al 4% 75,77% respectivamente y el fármaco de referencia dermaclin plus al 1% con una actividad de 86,56%. Resultando con mayor actividad cicatrizante el extracto al 4%.

Palabras clave: Cicatrización, *Lisianthus alatus* Aubl.

Healing effect of hydro-alcoholic extract of leaves *Lisianthus alatus* Aubl. "Kimsa cucho"

SUMMARY

This basic research work experimental was conducted during the months of March to July 2016, Laboratory of Pharmacology and Pharmacognosy, of the Professional School of Pharmacy and Biochemistry of the Faculty of Health Sciences, National University of San Cristobal of Huamanga, in order to determine the healing effect of hydro-alcoholic extract of leaves *Lisianthus alatus* Aubl. "Kimsa cucho". The taxonomic determination was performed in San Cristóbal of Huamanga University with the collaboration of the biologist Laura Aucasime Medina. In the identification phytochemical extract, the presence of triterpenoids and steroids, catechins, saponins, flavonoids, sugars, tannins, phenols and amino acids is reported. To determine the wound healing effect, the test method described by Howes healing was used. 25 g - research male weighing approximately 20 was made in albino mice. The mice were divided into five treatments: based gel (white), plus Dermaclin (reference drug) leaves hydroalcoholic extract 1%; 2% and 4% of *Lisianthus alatus* Aubl. "Kimsa cucho", which were gelled for administration. the healing effect of the three hydroalcoholic extracts of leaves was determined Aubl *alatus* *lisianthus*. "Kimsa cucho" extract 1% obtained a healing activity 16.78% 41.83% 2% 75.77% 4% respectively, and the reference drug Dermaclin plus 1% with an activity of 86, 56%. More healing activity resulting extract 4%.

Keywords: Scarring, *Lisianthus alatus* Aubl.

Correspondencia:

Mercedes Canahualpa Cisneros: mergio32@hotmail.com

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Facultad de Ciencias de la Salud – Av. Independencia s/n

INTRODUCCIÓN

La cicatrización empieza en la inflamación, cuando los macrófagos comienzan a digerir los microorganismos que han sobrevivido al ataque de los neutrófilos y destruyen a las células parenquimatosas y neutrófilos muertos. Generalmente veinticuatro horas después de la lesión, comienzan a proliferar los fibroblastos y las células endoteliales que en un periodo de tres a cinco días forman un tejido especializado (tejido de granulación) que es el rasgo fundamental de la curación de la inflamación. Finalmente, este tejido da lugar a una cicatriz formada por fibroblastos fusiformes, colágeno fragmentos de tejidos elásticos matriz extracelular y vasos relativamente escasos.¹

Las prácticas tradicionales, particularmente en nuestro país, poseen información valiosa de muchas plantas silvestres hasta ahora desconocidas pero usadas por los curanderos tradicionales para el tratamiento de heridas y quemaduras. La presencia de varios componentes que sostienen la vida en las plantas ha instado a los científicos para examinar estas plantas con el fin de determinar las posibles propiedades de cicatrización de heridas.²

Estudios de esta naturaleza (básico experimental). Ponen de manifiesto resultados útiles para seguir avanzando en esta misma línea de investigación. Este trabajo aportará evidencia científica sobre las potencialidades terapéuticas de *Lisianthus alatus* Aubl. en el tema cicatrización; esto siguiendo una metodología validada. A su vez, servirá como estudio preliminar a estudios de seguridad, calidad, eficacia y finalmente, su estudio aplicado en la formulación de formas farmacéuticas cicatrizantes, y farmacológicos más avanzados y su posterior escalamiento hacia un nivel aplicado de investigación.

Este estudio, revaloriza esta especie como recurso alternativo en el tratamiento de heridas, cuyo uso tradicional será demostrada experimentalmente. Cabe resaltar que en la Región de Ayacucho en la población rural del Valle de Rio Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM) y en otros lugares trópicos; las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl “kimsa cucho” se utiliza de manera empírica para diferentes signos y sintomatologías, como para los cólicos intestinales, agente cicatrizante, hipocolesterolemia, antihipertensivo, antipirético, etc. pero no hay estudios científicos que demuestren dichas actividades.³

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

2,5 kg de hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho” recolectada en el distrito de Ayna San Francisco, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.

Tamizaje fitoquímico

Se realizaron según procedimientos descritos por Miranda y Cuéllar.⁴

Procedimiento: Se depiló el lomo del ratón en un área aproximada de dos centímetros cuadrados, esto se realizó 24 horas antes con el fin de descartar una reacción alérgica a la crema depiladora.

Se pesó a los ratones y se colocaron en jaulas individuales.

Se anestesió con halatal 74 mg/kg; vía SC para una buena manipulación.

Luego se realizó la incisión de un centímetro de largo en el lomo del ratón, previamente la zona se desinfectó.

Después se afrontó los bordes de la herida y se realizó la sutura con dos puntos y nudo triple.

Se aplicó la primera dosis de tratamiento a la unidad experimental, y se repitió cada 8 horas, por un periodo de 4 días.

Pasado los 4 días se procedió a sacrificar al ratón con una sobre dosis de Halatal.

Al momento de quitar el punto de sutura se colocó al animal en posición de cubito ventral sobre el aparato dinamómetro.

Se insertó las agujas del aparato de dinamómetro a 0.5 cm de los bordes de la herida y se dejó caer agua al vaso, hasta que genere la tensión que abra la herida en toda su longitud.⁵

El porcentaje de actividad se halló por la siguiente fórmula:

$$\% EC = \frac{X_{tto} - X_b}{X_b} \times 100$$

Donde,

%EC : Porcentaje de efecto cicatrizante.

X_{tto} : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo tratado con los extractos

X_b : Fuerza promedio para abrir la herida del grupo sin tratamiento (blanco).

Análisis de datos

La diferencia significativa existente entre los tratamientos se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 95%. Las comparaciones para los tratamientos se realizaron con la Prueba HSD de Tukey, y frente al Dermaclin plus al 1 % con la prueba de Dunnett. Se realizó el uso del software estadístico SPSS, versión 20,0.

Correspondencia:

Mercedes Canahualpa Cisneros: mcrgio32@hotmail.com

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Facultad de Ciencias de la Salud – Av. Independencia s/n

RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”. Ayacucho 2016

Metabolitos secundarios	Reactivos y/o reacciones	Resultados	Observaciones
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman - Burchard	++	Coloración verde oscuro
Catequinas	Carbonato de sodio + luz UV	++	Coloración verde carmelita a la luz UV
Resinas	Agua destilada	+	Precipitado
Azucares reductores	Fehling	+	Precipitado rojo vino
Saponinas	Espuma	++	Formación de espuma
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	+	Coloración rojo vino
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración rojo

Leyenda:
 Ausente : (-)
 Escasa : (+)
 Buena : (++)
 Excelente : (+++)

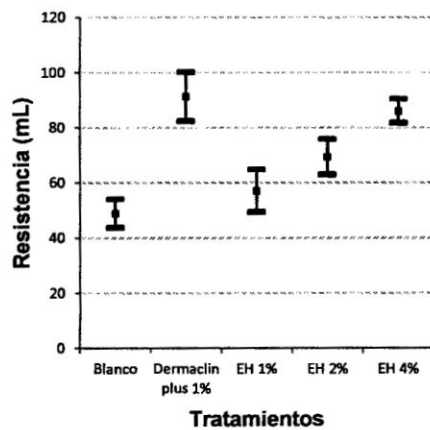


Figura 1. Promedio de resistencia a la tensión (mL) para evaluar la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”, frente al Dermaclin plus 1 % y blanco ($p = 2.16 \times 10^{-11}$). Ayacucho 2016.

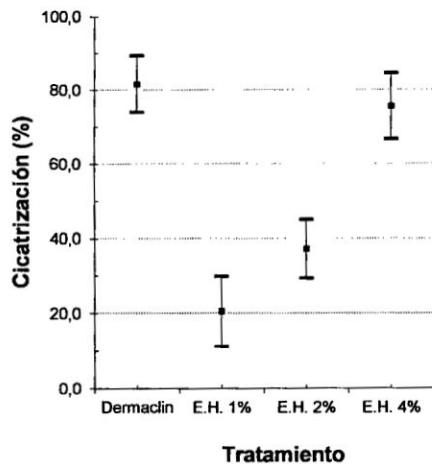


Figura 2. Porcentaje de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho” frente al Dermaclin plus 1 %. Ayacucho 2016.

DISCUSIÓN

La cicatrización es un proceso muy complejo y dinámico que involucra la participación de diversos eventos celulares y bioquímicos para llevar a cabo la reparación del tejido lesionado. Entre los eventos celulares involucrados que realizan, los fibroblastos, principal célula de la reparación, está la migración, la proliferación, la adhesión y la diferenciación fenotípica, entre otros.⁶

La cicatrización es un proceso que ocurre normalmente en los diferentes órganos y tejidos, sin embargo, debido a diferentes factores principalmente infecciones, isquemia, hipoxia, anormalidades metabólicas como diabetes, inmunosupresión y condiciones como malnutrición, edad, daño al tejido, entre otros, la cicatrización no se lleva de manera adecuada, prolongándose el tiempo de cierre y causando complicaciones tan severas como la pérdida de extremidades e incluso la muerte. Debido a esto, personas que presentan alguna de estas complicaciones requieren el uso de agentes que faciliten la cicatrización.⁷

Los estudios de cicatrización son difíciles por la variabilidad en las heridas. Existen numerosos factores que pueden influir en el fracaso de los ensayos, como lo son el tamaño de la herida, la profundidad, la localización, la vascularización, la duración, el estado nutricional, etc. Por toda esta variabilidad, se debe incluir un gran número de experimentación en el estudio. Sin embargo, en contraste con esto, todas estas condiciones pueden ser controladas en los estudios con animales de experimentación.⁸

Las plantas son una fuente enorme de moléculas con principios activos frente a diferentes patógenos, células, padecimientos, etc., éstas se han estudiado como fuente de agentes terapéuticos debido a sus efectos

benéficos que han demostrado tener. Entre estos encontramos a la cicatrización de heridas, en donde se ha visto que actúan en una o más etapas de dicho proceso. Entre las moléculas que se han identificado de diferentes plantas que participan en el evento de cicatrización están los metabolitos pertenecientes a las familias de los taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos, naftoquinonas, alcaloides y biomoléculas, lo que hace que en la medicina tradicional sean ampliamente utilizadas.⁹

En este estudio se evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”, perteneciente a la familia Gentianaceae. En un estudio etnobotánico realizado por Palacios J. (1997), menciona que los indígenas de las cuencas del Amazonas y del Río Negro utilizan la planta para tratar heridas en la piel, infecciones dermatológicas causadas por hongos e infecciones vaginales.¹⁰

Por lo cual, primero se realizó un análisis fitoquímico para identificar los principales metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”, utilizando pruebas colorimétricas. Los resultados obtenidos señalaron la presencia de triterpenos y/o esteroides, catequinas, flavonoides y saponinas (++), resinas, azúcares reductores y compuestos fenólicos (+) mostrados en la tabla 1 respectivamente. Lock,¹¹ demostró y corroboró que los metabolitos secundarios responsables del efecto cicatrizante, son específicamente los flavonoides y compuestos fenólicos a ello se suma que han demostrado ser importantes en la cicatrización de heridas debido a sus propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias y actividades antibacterianas.⁵ Kuklinski,¹² nos menciona que algunos metabolitos secundarios coadyuvan a la acción de la luteolina y quercetina (árnica), los cuales participan en el proceso de cicatrización. La presencia de flavonoides, catequinas y taninos, confieren la propiedad cicatrizante, por tener capacidad de regenerar los tejidos. Los flavonoides pueden ser un buen aliado para los problemas de coagulación, previniendo la trombosis y las hemorragias, fortaleciendo los vasos sanguíneos y dándoles flexibilidad, también actúan como antioxidantes ya que ayuda a que la vitamina C mantengan equilibrados nuestros niveles de colágeno (sustancia que da elasticidad a nuestra piel), igualmente ayudan a protegernos de las infecciones. Los procesos de curación de heridas comprenden la coagulación, la inflamación, la proliferación, la formación y la

acumulación de tejido fibroso, el depósito de colágeno, la epitelización, la contracción de la herida con la formación de tejidos de granulación, remodelación y maduración. Los constituyentes de los extractos de plantas modulan una o más de las etapas anteriores; los saponósidos en particular actúan como estimuladores de la producción del colágeno.⁶ La presencia de los ácidos grasos: palmítico, esteárico, oleico, linoléico, y linolénico ayudan en la síntesis de colágeno, incitan a la fabricación de citosina, además incrementan la cohesión celular.¹³

En el anexo 16, se presentan los parámetros fisicoquímicos del *Lisianthus alatus* Aubl; donde se evaluaron con muestra de hojas de la planta el porcentaje de humedad 13,55%, encontrándose en los valores del rango (ref. 8 – 14) y el porcentaje de cenizas totales 3,004% encontrándose también dentro de los valores establecidos (ref < 5), dadas por Miranda²², ambas evaluaciones nos conlleva a poder deducir la viabilidad de la planta en cuanto a su producción, el valor de las cenizas totales nos indica sobre los elementos inorgánicos presentes en la planta y observando el valor dado anteriormente podemos deducir que la planta no presenta contaminantes ni metales pesados que puedan afectar su viabilidad.²² En cuanto a las características organolépticas del extracto presenta color pardo oscuro, olor *sui generis*, un sabor amargo, soluble en agua, metanol y poco soluble en etanol, pH de 4,96. Nuestro extracto resultó poco soluble en etanol, pero soluble en agua y metanol, puede deberse a la polaridad y está dada por la constante dieléctrica la cual tiene relación con la ruptura de los compuestos químicos, como en este caso el que tiene mayor constante dieléctrica son el agua y el metanol, por ende la solubilidad es mejor en estos.¹²

En la figura 3, se presentan las medidas de tensión en mililitros, capaz de abrir la herida cicatrizada en los ratones. Observando que a mayor resistencia nos indica una mayor cicatrización. Al producirse la herida se produce una respuesta inflamatoria que induce y modula la proliferación vascular y fibroblástica. Tras estos fenómenos proliferativos tiene lugar la síntesis y maduración del colágeno que proporciona la resistencia a la tracción propia de la cicatriz.¹⁴ Resulta que el volumen promedio realizado al cuarto día por efecto del dermaclin plus 1% fue de 91,35±3,4 mL, seguido el extracto al 1% de 57,18±3,0 mL, extracto al 2% fue de 69,45±2,4 mL, extracto al 4% fue de 86,07±1,7 mL y blanco (agua destilada) 48,97±2,0 mL. Con

estos resultados observamos que el extracto al 4% es óptimo para la actividad cicatrizante que es similar al valor del fármaco de referencia.

En la figura 4, se presentan el porcentaje de actividad de los diferentes tratamientos, siendo los resultados con el extracto hidroalcohólico de hojas al 1% de 16,78%, extracto hidroalcohólico de hojas al 2% de 41,83% y extracto hidroalcohólico de hojas al 4% de 75,77% de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”. Siendo este último el de mejor actividad cicatrizante. Todas las heridas siguen el mismo patrón de tensión. Al final de la primera semana la resistencia es de un 10% de la que tiene el tejido sano, pero luego aumenta rápidamente en el cuarta semana.¹⁵ Es un tanto difícil determinar específicamente en qué etapa o fase de la cicatrización interviene ya que en la actualidad se conoce de muchos compuestos químicos que participan en el proceso de cicatrización, es en este sentido que, Krasnow y Galko¹⁶ mencionan que “la cicatrización de heridas no funciona como una cadena de baldes para apagar un incendio, es más bien como un departamento de incendios moderno con distintos bomberos que responden y contienen distintas partes del daño, al mismo tiempo que cada uno le avisa a los demás cómo va su tarea y si necesita ayuda”. En el extracto encontramos metabolitos como flavonoides que son los primeros que participan en la cicatrización, ya que detienen la hemorragia y fortalecen la vascularización como se mencionó anteriormente, segundo entran los triterpenoides y esteroides activando su propiedad antiinflamatoria junto a los flavonoides, y tercero las saponinas quienes ayudan en la producción del colágeno, todos estos actúan simultáneamente para el proceso de la cicatrización.

El análisis de varianza, es una técnica mediante el cual la variación total presente en un conjunto de datos se distribuye en varios componentes. Con cada una de estos componentes se asocia a una fuente específica de variación de modo que en el análisis es posible averiguar la magnitud de las contribuciones de cada una de estas fuentes a la variación total.³⁵ En base a lo anterior se determinó la diferencia que existe entre los grupos de tratamiento (Anexo N° 17), obteniéndose una diferencia significativa de actividad cicatrizante ($p = 7,01 \times 10^{-8}$).

El análisis de varianza conduce a un rechazo de la hipótesis nula de no diferencia entre las medias de los grupos, surge de manera natural la pregunta que se refiere precisamente a cuáles parejas de medias son diferentes.¹⁷ Para

responder a esta pregunta se usó el análisis estadístico de Tukey (anexo 18), en la cual se determinó que el tratamiento del blanco es diferente al tratamiento extracto hidroalcohólico de hojas al 1%, extracto hidroalcohólico de hojas al 2% son estadísticamente significativos; el dermaclin plus al 1% y el extracto hidroalcohólico de hojas al 4% de *Lisianthus alatus* Aubl. “kimsa cucho”, no hay diferencias estadísticamente significativas, por lo que la actividad cicatrizante del extracto estudiado al 4% es comparable con la actividad cicatrizante provocado por el dermaclin plus al 1%. Por lo que el mayor efecto cicatrizante en los extractos lo presenta el extracto al 4%, posiblemente se deba a una proporción mayor de componentes presentes en el extracto; en la cual la acción farmacológica es mayor a la suma de dosis de cada fármaco.¹⁸

En otras investigaciones el efecto cicatrizante es mayor a menores concentraciones, en el presente trabajo se ha demostrado lo contrario, el extracto hidroalcohólico presenta mayor efecto cicatrizante a mayor concentración. La actividad cicatrizante podría deberse a la presencia de dihidroxiisoflavonas, trihidroxiisoflavona y taninos presentes que reaccionarían con las células de la piel injuriada interviniendo en el proceso de la cicatrización.¹⁹ Estos metabolitos mencionados cuando se presentan en mayor concentración producen un efecto de saturación los cuales disminuyen su actividad cicatrizante sobre todo por la presencia de taninos o compuestos fenólicos, ya que estos precipitan las proteínas presentes en la piel. En el trabajo realizado no hay presencia de taninos o compuestos fenólicos o son muy pocas por lo cual que a mayor concentración presenta mejor su efecto cicatrizante.

El análisis estadístico de ANOVA nos ayuda a saber si existe diferencia significativa entre los datos analizados, esto se logra observando el valor de F, se dice que existe diferencia significativa cuando el valor de F es mayor que el valor de F crítico. En el (anexo 16), el valor de F es de 32,462 mientras que el F crítico es de 4,36 por lo que se puede decir que existe diferencia significativa entre los datos, afirmando lo explicado anteriormente. Por lo cual, se realizó un test post confirmatorio aplicando el método de Dunnett.

El método de Dunnett (anexo 19) se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para las diferencias entre la media de cada nivel de los factores y la media de un grupo de control. Si un intervalo contiene cero, entonces

Correspondencia:

Mercedes Canahualpa Cisneros: mergio32@hotmail.com
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Facultad de Ciencias de la Salud – Av. Independencia s/n

no existe diferencia significativa entre las dos medias comparadas.²⁰ Con ello podemos afirmar que los extractos 4 % y el Dermaclin plus 1 % presentan un intervalo cero de significancia frente al blanco, con el extracto al 2 % presenta un nivel de significancia 0,001 frente al blanco y el extracto al 1 % presenta una significancia de 0,327 frente al blanco, por lo tanto, el que presenta una actividad cicatrizante es el extracto al 4 % y el Dermaclin plus 1 %.

La evaluación de la resistencia de las heridas en proceso de cicatrización fue reportada por primera vez en 1929 por Howes y col.²¹ En 1965, fue investigada la cicatrización normal en piel de rata, evaluando la resistencia a la tensión como porcentaje del valor de la piel no lesionada, frente a los días después de la incisión. En 2 días, la resistencia a la rotura en heridas incisas en piel de rata está entre 50–100 g/cm. En este momento la herida apenas contiene bandas de fibrina, algunas asas capilares, leucocitos y unos cuantos fibroblastos; pero la superficie epitelial consta de una hoja confluyente de células. Estudios experimentales indican que las fuerzas intercelulares, la adhesión de las proteínas globulares y la polimerización de la fibrina, son los elementos que originan fuerzas de esta magnitud.²² En el experimento realizado se usó la resistencia a la rotura mediante el volumen, en el cuarto día, el líquido usado fue agua el cual tiene una densidad igual a 1; por lo cual su peso es 1 g, el volumen promedio, por efecto del dermaclin plus 1% fue de 91,35±3,4 mL, seguido el extracto al 1% de 57,18±3,0 mL, extracto al 2% fue de 69,45±2,4 mL, extracto al 4% fue de 86,07±1,7 mL y blanco (agua destilada) 48,97±2,0 mL (Anexo 15); los cuales se encuentran dentro del parámetro (50-100 g/cm).

Hay factores que pueden retardar el proceso de cicatrización como la presencia de bacterias en la herida, por nutrición inadecuada, por un estado patológico coexistente y por factores fisiológicos.²³ En el experimento realizado, se usó seis ratones por grupo, lo cual esto es inadecuado para el experimento ya que estos animales entre ellos se pueden lastimar, morder, arañar y así no permitir una buena cicatrización, por lo que se sugiere trabajar individualmente para que no haya interferencias.

Para el extracto hidroalcohólico principalmente se utilizan extracciones de mezclas hidroalcohólicas (agua y alcohol etílico) en proporciones variables. La utilización de mezclas variables de agua y alcohol permite

seleccionar las sustancias sin interés farmacológico así como separar los principios activos entre sí.²⁴ Estos extractos, antes de ser utilizados en modelos experimentales, pueden concentrarse para eliminar el solvente de extracción totalmente en el caso que interfiera con la acción farmacológica o parcialmente para reducir el volumen y de esa manera facilitar la administración.¹² Para esta investigación se utilizó el alcohol a 80 ° (225 mL de agua destilada y 1000 mL de alcohol 96 °), en un total de 2 Litros; se maceró por siete días y se concentró en estufa a temperatura de 50 °C, presentándose con sedimento, color y aroma característicos de la planta.

El continuo desarrollo de nuevos productos destinados a favorecer la integridad cutánea nos ofrece una amplia gama de posibilidades. Realizar la elección correcta de acuerdo con las necesidades del paciente permitirá alcanzar mejores resultados.²⁵

Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio validan la propiedad cicatrizante de esta planta y su uso tradicional para el tratamiento de heridas. Demostrando que a concentraciones bajas tiene efecto en la reparación de heridas. Sin embargo, se requieren estudios más amplios y profundos para obtener mejores conocimientos de sus propiedades terapéuticas.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Menéndez AB, Parra AL, Pavón VB, Domínguez CC, Martínez OV, Sardinas IG. Actividad Cicatrizante y Ensayos de Irritación de la Crema de Calendula officinalis al 1%. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2007; 26(6):24.
2. Nayak BS, Pereira LMP. Catharanthus roseus flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2006; 6(1):41.
3. Magallanes, C. Estudio ecológico y etnobotánico de plantas medicinales y alto andinas de Quinua y Chiara". UNSCH. FCB. Perú. 1994.
4. Miranda M, Cuéllar A. (1992). Manual de prácticas de laboratorio farmacognosia y productos naturales. Cuba: Editorial Ciencia y Educación.
5. Arroyo, J.; Rojas, J. y Chenguayen, J. 2004. "Manual de modelos experimentales de farmacología". Primera Edición. Perú.
6. Fredy O, Contreras S, Blanca G. Fisiopatología conceptos básicos universidad central de Venezuela. Edit.

Correspondencia:

Mercedes Canahualpa Cisneros: mergio32@hotmail.com
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Facultad de Ciencias de la Salud – Av. Independencia s/n

- McGraw H INTERAMERICANA Venezuela. ILL, Edición 2003.pag 56-57
7. Oriana H. Determinación del efecto cicatrizante del extracto acuoetanólico de la planta *Bacopa procumbens* en la línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón. IPN Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía México DF. [revista on line] 2010. [Acceso julio 2016]; Disponible en: <http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/7502/1/DETEREFECTO.pdf>
 8. Verdugo M. Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (*Jungia cf. rugosa*). Universidad de Cuenca. Ecuador. [revista online] 2008. [Acceso julio 2016]; Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20266/1/TESIS.pdf>
 9. Esperanza G. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum L*) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. [revista online] 2015. [Acceso julio 2016]; Disponible en: <http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/4576/1/56T00591%20UDCTFC.pdf>
 10. Palacios J. Plantas medicinales nativas del Perú. Lima: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONCYTEC; 1997.
 11. Lock O. “Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales”. Fondo Editorial PUCP Lima-Perú. 1994.
 12. Kuklinski C. Farmacognosia. Barcelona: Omega, S.A.; 2003.
 13. Martínez F. y Pareras E. La efectividad de los ácidos grasos hiperoxigenados en el cuidado de la piel perilesional, la prevención de las úlceras por presión, vasculares y de pie diabético. España [revista online]. 2009, [acceso, julio 2016]. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/geroko/v20n1/41helcos.pdf>
 14. Mujica P. Portugal V. García I. López I. Bilbao J. Méndez J. “Metodología para el estudio de las primeras fases del proceso de cicatrización”. [revista online]. 2004 [acceso, julio 2016]. Disponible en: www.oc.lm.ehu.es/Laboratorio/Publicaciones/PDF%20articulos/1992%20CirEsp4.pdf
 15. Agulló, J. “Estudio experimental de la cicatrización en artroplastia de resección de la cadera”. Tesis para optar el título de doctor en medicina y cirugía. Universidad de Barcelona. [revista online]. 2007 [acceso, julio 2016]. Disponible en: http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/1094/01.JLAF_INTRODUCCION.pdf?sequence=2
 16. Krasnow, M. y Galko, M. “Public Library of Science Biology”. Agosto 2004.
 17. Daniel, W. “Bioestadística: Base para el análisis de las Ciencias de la Salud”. Editorial Limusa. México. 1996.
 18. Alvarado, J. “Manual de farmacología”. Segunda Edición. Editorial Apuntes Médicos del Perú. Lima. 1999.
 19. Vargas C. Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de *Senna reticulata* (Willd.). Irwin & Barneby (“retama”). Tesis para optar el Grado de Magisterg. UNMSM. Lima – Perú. [revista online]. 2007 [acceso, julio 2016]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2585/1/Vargas_cc.pdf
 20. Soporte de Minitab® 17. Método de Dunnett para comparaciones múltiples [revista online]. 2016 [acceso, julio 2016]. Disponible en: <http://support.minitab.com/es-mx/minitab/17/topic-library/modeling-statistics/anova/multiple-comparisons/what-is-dunnett-s-method/>
 21. Howes E. The healing of wounds as determined by their tensile strength. The journal of the American Medical Association. JAMA [revista online]. 1929 [acceso, julio 2016]. Disponible en: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=262836>
 22. Brady R. Curso programado de anatomía y fisiología. 5a ed. Editorial. Mexico: Limusa, 2002. <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=262836>
 23. Guillermo F. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomia scutellaefolia R.* et P. en geles aplicados a *Ratus norvergicus*. UNMSM. Folia dermatol. Peru. 16 – 1. [revista online]. 2005 [acceso, julio 2016]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol16_n1/pdf/a03.pdf
 24. Osorio E. Farmacognosia. Universidad de Antioquia. España [revista online]. 2014 [acceso, julio 2016]. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/fl.pdf>
 25. Valverde, R. y Turturici M. “Prevención y tratamiento de las lesiones cutáneas en neonatología: ¿cómo elegir el apósito adecuado?”. [revista online]. 2005 [acceso, julio 2016]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/aap/v103n3/v103n3a08.pdf>

Correspondencia:

Mercedes Canahualpa Cisneros: mergio32@hotmail.com
 Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
 Facultad de Ciencias de la Salud – Av. Independencia s/n