

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



“EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DEL *Origanum vulgare* L. “Orégano” SOBRE HERIDAS EN MODELOS DE EXPERIMENTACIÓN IN VIVO”

**Tesis presentada por los Bachilleres en
Farmacia y Bioquímica:**

García Castillo, Lizet Fiana

Pinto López, Erick Alexander

Para optar el Título Profesional de:

Químico Farmacéutico

Asesor:

Q.F. Mocita De La Fuente Torres

AREQUIPA – PERÚ

2018

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 20170000048514

N° Trámite en Fac. 1726-2017

Fecha 27-10-2017

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL


DE: GARCIA CASTILLO, Lizet Fiama
PINTO LOPEZ, Erick Alexander

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"EVALUACION DEL EFECTO CICATRIZANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE
Origanum vulgare L. (Orégano) SOBRE HERIDAS EXPERIMENTALES EN RATAS WISTAR
ALBINO"

DICTAMINADORES: 1) Mgter. Angélica Corzo Salas 2) Q. F. Fernando Torres Vela

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por la recurrente, se ha procedido a la revisión del trabajo de investigación y hechas las observaciones y sugerencias correspondientes, consideramos que se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad
Atentamente

Firmas:  (Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha 06-12-2017

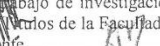
ASESOR: Q. F. Mocita De La Fuente Torres

DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como Asesora en el presente Trabajo de Investigación, cumpro con informar que este se ha desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados y se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.
Atentamente

Firma  Fecha 16-10-2018

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Q. F. Juan Ramírez Orellana
- 2) Dra. Angelica Corzo Salas
- 3) Q. F. Fernando Torres Vela

DICTAMEN DE BORRADOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por la recurrente, debiendo cambiar el título a "EVALUACION DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DEL *Origanum vulgare* L. "Oregano" SOBRE HERIDAS EN MODELOS DE EXPERIMENTACION IN VIVO", y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que el presente trabajo de investigación se encuentra APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.
Firmas:  (Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha
Atentamente

JURADOS: Presidente Q. F. JUAN RAMÍREZ ORELLANA
Vocal MAG. ANGÉLICA CORZO SALAS
Secretario Q. F. FERNANDO TORRES VELA

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 19/12/18 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)


DECANO

Agradecimientos

A **DIOS** y a la **VIRGEN MARÍA**, por tantos favores otorgados y por la fortaleza para seguir adelante y alcanzar este grandioso objetivo.

A mis amados padres, por el apoyo incondicional y sacrificado para que esta meta en particular sea alcanzada. **ESMARAGDO**, desde donde estás, gracias por tanto ejemplo de vida y **MARINA**, gracias por acompañarme en esta aventura desde que se inició.

A mi querida familia, por creer en que esto se haría realidad. Tías **EVA**, **SUSANA** y **VILMA**; gracias por los ánimos, hermanas **YAMILIA**, **HELEN** y **MARITZA**; gracias por las exhortaciones, sobrinos **MARÍA FERNANDA**, **MARIANA**, **ADRIÁN**, **PEDRO**, **ANA PAULA**, **GABRIEL** y **ALEXANDRA**; gracias por las bromas y espero que esto sea un orgullo para todos ustedes.

A mi entrañable amiga y compañera de tesis, gracias por el empuje y las ganas puestas para que esto se concrete. **LIZET**, sin ti esto no hubiera sido nada divertido.

A mi alma mater, la **UCSM**; por la calidad de la enseñanza, la disposición de los docentes y la promoción del aprecio a mi carrera profesional.

Erick

Agradecimientos

El presente trabajo de investigación se lo dedico principalmente a **DIOS**, por ser el inspirador y darme la fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de mis anhelos más deseados.

A mis padres **FELICITAS Y TORIBIO** por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. A mis hermanos, **LENIN, KARINA, HENRY Y REDY** por estar siempre presentes, acompañándome, principalmente por el apoyo moral que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida. A mi sobrina **KARLA** gracias por tu apoyo y amor incondicional.

Gracias hijo mío **MATHÍAS GABRIEL** por ser el motor de mi vida, motor que siempre esta encendido, tu amor es el detonante de mi felicidad, de mi esfuerzo, de mis ganas de buscar lo mejor para ti. A tu corta edad me has enseñado muchas cosas de la vida. Eres mi motivación más grande para concluir mi proyecto. Gracias vida de mi vida.

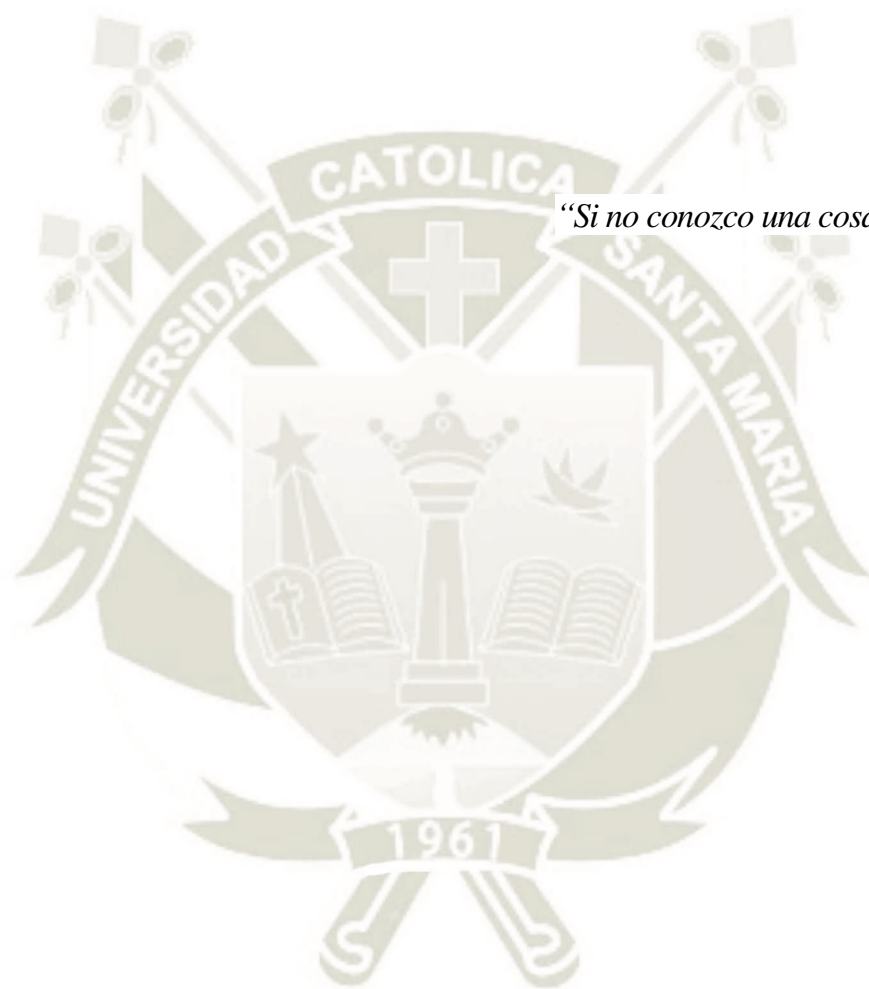
A mí querido amigo y compañero de tesis **ERICK**, te agradezco no solo por la ayuda brindada, sino por los buenos momentos que compartimos. A mi gran amiga **CECILIA**, gracias por tu desinteresada ayuda, por echarme una mano cuando siempre la necesite. Son mis mejores amigos y soy afortunada de tenerlos en mi vida.

Finalmente queremos expresar nuestro más grande y sincero agradecimiento al **Dr. JAIME CÁRDENAS GARCÍA**, principal colaborador durante todo este proceso, quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Universidad Católica de Santa María por ser la sede de todo el conocimiento adquirido en estos años de carrera universitaria.

Lizet





“Si no conozco una cosa, la investigaré”

Louis Pasteur

ÍNDICE

RESUMEN.....	8
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	12
HIPÓTESIS	14
OBJETIVOS.....	15
MARCO TEÓRICO	16
1. Piel	
1.1. Concepto	
1.2. Partes.....	
1.3. Funciones	18
2. Heridas	19
2.1. Concepto	
2.2. Tipos de heridas	20
2.3. Complicación de heridas	21
2.4. Evaluación de las heridas	
3. Cicatrización.....	23
3.1. Concepto	
3.2. Proceso de la cicatrización	24
3.3. Tratamiento.....	31
3.4. Fármacos cicatrizantes	32
3.5. Plantas medicinales con actividad cicatrizante.....	33
3.6. Modelos animales para los estudios de cicatrización.....	34
4. <i>Origanum vulgare</i> L.	36
4.1. Clasificación taxonómica.....	
4.2. Sinonimia	37
4.3. Introducción y descripción botánica	
4.4. Origen y distribución geográfica	38
4.5. Descripción fitoquímica.....	39
4.6. Usos y propiedades farmacológicas.....	
5. Aceites Esenciales	40
5.1. Definición.....	41
5.2. Localización.....	
5.3. Composición química	42

5.4. Obtención.....	
5.5. Control y análisis	44
5.6. Aplicaciones.....	44
MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
1. Material biológico.....	
2. Reactivos, materiales y equipos	
2.1. Reactivos	
2.2. Materiales	
2.3. Equipos	47
3. Métodos	
3.1. Obtención del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L.....	
3.2. Caracterización del aceite esencial.....	49
3.3. Composición química	50
3.4. Preparación de una forma farmacéutica conteniendo el aceite esencial	51
3.5. Evaluación del efecto cicatrizante del aceite esencial.....	52
3.6. Análisis estadístico	53
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
1. Obtención del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L.....	
2. Caracterización del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L.....	57
2.1. Análisis fisicoquímico y organoléptico.....	
2.2. Composición Química.....	60
2.3. Elaboración del gel.....	63
2.4. Evaluación del efecto cicatrizante del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L.....	64
CONCLUSIONES.....	71
SUGERENCIAS	72
BIBLIOGRAFÍA.....	73
ANEXOS	78

RESUMEN

La cicatrización es un proceso biológico que permite la reparación de un tejido dañado. Existen diversos medicamentos que favorecen la cicatrización, pero poseen un alto costo y podrían provocar efectos secundarios. Debido a esto, surge la necesidad de encontrar nuevas alternativas que favorezcan este proceso. Recientemente, los aceites esenciales están siendo ampliamente estudiados, debido a su gran variedad de aplicaciones farmacológicas.

El presente estudio de investigación se desarrolló en los laboratorios H-104, F-203 y Bioterio de la Universidad Católica de Santa María; el cual tuvo como objetivo principal Evaluar el efecto cicatrizante del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. sobre heridas experimentales en ratas Wistar albino.

Las hojas de *Origanum vulgare* L. fueron recolectadas del distrito de Huambo, provincia de Caylloma, departamento de Arequipa, Perú. La identificación botánica de esta especie vegetal fue realizada por el Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. El material vegetal fue lavado, secado y molido. Luego, se realizó la obtención de los aceites esenciales por medio del método de hidrodestilación utilizando el aparato de Clevenger. Se determinó el porcentaje de rendimiento de extracción y se caracterizaron los aceites esenciales obtenidos. Además, se determinó la composición química (cualitativa y cuantitativa) de estos aceites esenciales mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se elaboró geles con este aceite esencial y se evaluaron sus

características. El efecto cicatrizante se evaluó mediante un modelo de herida por incisión en ratas Wistar albino, el grado de cicatrización se evaluó mediante la medición de la fuerza de resistencia a la tracción de las heridas, utilizando un tensiómetro. Asimismo, se comparó los geles con los aceites esenciales con un gel comercial (gel Cicatricure®).

Los aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L. presentaron un porcentaje de rendimiento de extracción de 0.25 ± 0.03 % y en cuanto a su caracterización mostró un color amarillo claro, olor *sui generis*, densidad relativa de 0.9247 g/mL, índice de refracción de 1.51, solubilidad de 1:9 en etanol 70%. Sus componentes químicos más abundantes fueron el α -pineno (26.22%), cis- β -terpineol (18.77%), acetato de linalilo (12.52%) y (+)-4-careno (10.60%). Se consiguió elaborar geles con los aceites esenciales a diferentes concentraciones de 1, 2 y 3%, los cuales presentaron color amarillento claro y homogéneo, consistencia semisólida, olor *sui generis* y los geles presentaron un rango de pH de 5.2-5.7. Los geles con aceites esenciales de orégano al 2 y 3% presentaron un mayor efecto cicatrizante estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación a los otros grupos experimentales. Entre ambos grupos no hubo diferencia significativa. Asimismo, estos geles (2 y 3%) tuvieron un mayor efecto cicatrizante estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación con el gel comercial (gel Cicatricure®). El gel con aceites esenciales al 1% presentó un efecto cicatrizante estadísticamente similar ($p < 0.05$) a este gel comercial.

Se concluye que los geles con aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. al 1, 2 y 3% tienen efecto cicatrizante. Los geles con aceites esenciales al 2 y 3% poseen un mayor efecto cicatrizante en comparación al gel Cicatricure®. La concentración que debe ser utilizada de aceites esenciales en el gel es la de 2% sobre heridas experimentales en ratas Wistar.

Palabras Clave:

Cicatrizante, *Origanum vulgare* L., aceites esenciales, heridas experimentales.

ABSTRACT

Cicatrización es un proceso biológico que permite la reparación de tejido dañado. Existen varias medicaciones que promueven la cicatrización, pero tienen un costo alto y pueden causar efectos secundarios. Debido a esto, se necesita encontrar nuevas alternativas que favorezcan este proceso. Recientemente, los aceites esenciales están siendo ampliamente estudiados, debido a su amplia variedad de aplicaciones farmacológicas.

El presente estudio de investigación se desarrolló en los laboratorios H-104, F-203 y Bioterio de la Universidad Católica de Santa María; cuyo objetivo principal fue evaluar el efecto cicatrizante de los aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L. en heridas experimentales en ratos Wistar albino.

Las hojas de *Origanum vulgare* L. fueron recolectadas en el distrito de Huambo, provincia de Caylloma, departamento de Arequipa, Perú. La identificación botánica de esta especie vegetal se realizó en el Herbario Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. El material vegetal fue lavado, seco y molido. Luego, los aceites esenciales fueron obtenidos mediante el método de hidrodestilación utilizando el aparato de Clevenger. Se determinó el porcentaje de rendimiento de extracción y se caracterizó los aceites esenciales obtenidos. Además, se determinó la composición química (cualitativa y cuantitativa) de estos aceites esenciales mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se realizaron geles con estos aceites esenciales y se evaluaron sus características. El efecto cicatrizante se evaluó mediante un modelo de herida incisional en ratos Wistar albino, el

degree of healing was assessed by measuring the tensile strength of the wounds, using a tensiometer. Likewise, the gels were compared with the essential oil with a commercial gel (Cicatricure® gel).

The essential oils of the leaves of *Origanum vulgare* L. showed a percentage of extraction yield of $0.25 \pm 0.03\%$ and in terms of its characterization showed a light yellow color, sui generis odor, relative density of 0.9247 g/mL, refractive index of 1.51, solubility of 1:9 in 70% ethanol. Its most abundant chemical components were α -pinene (26.22%), cis- β -terpineol (18.77%), linalyl acetate (12.52%) and (+)-4-carene (10.60%). It was possible to elaborate gels with the essential oils at different concentrations of 1, 2 and 3%, which presented clear and homogeneous yellowish color, semisolid consistency, sui generis odor and the gels had a pH range of 5.2-5.7. The gels with essential oils of oregano at 2 and 3% had a greater healing effect statistically significant ($p < 0.05$) compared to the other experimental groups. Between both groups there was no significant difference. Likewise, these gels (2 and 3%) had a greater statistically significant healing effect ($p < 0.05$) in comparison with the commercial gel (Cicatricure® gel). The gel with 1% essential oils had a statistically similar healing effect ($p < 0.05$) on this commercial gel.

It is concluded that the gels with the essential oils of *Origanum vulgare* L. at 1, 2 and 3% have a healing effect. Gels with 2 and 3% essential oils have a greater healing effect compared to Cicatricure® gel. The concentration that must be used of essential oils in the gel is 2% on experimental wounds in Wistar rats.

Keywords:

Healing, *Origanum vulgare* L., essential oils, experimental wounds.

INTRODUCCIÓN

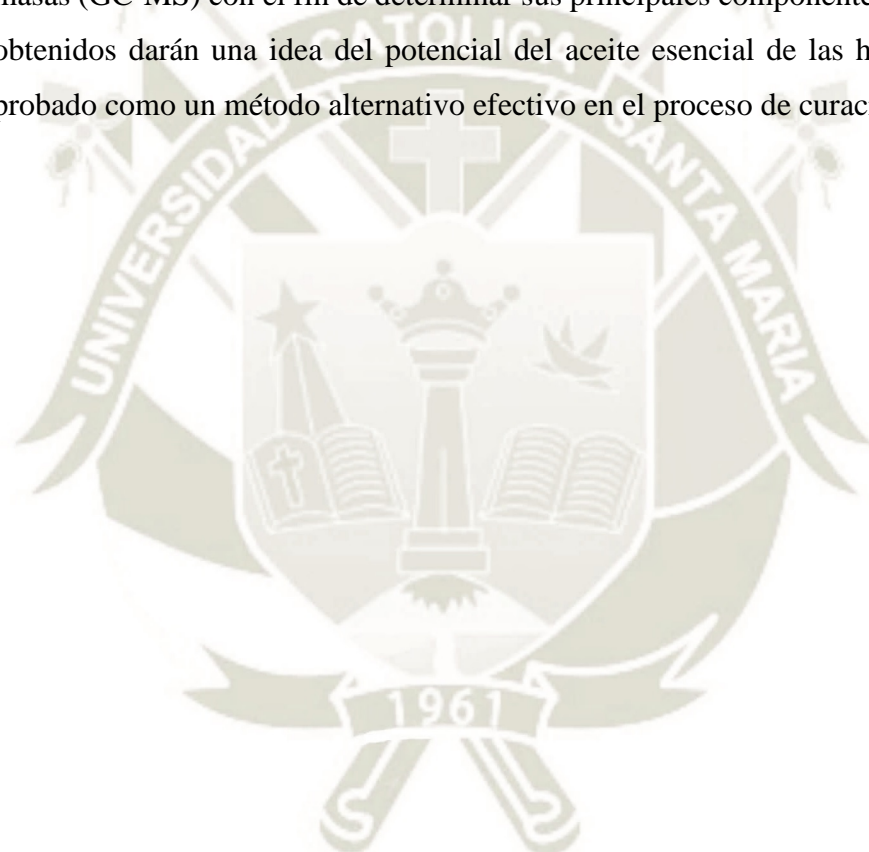
Una herida puede definirse como la pérdida o ruptura de la continuidad celular o anatómica o funcional del tejido vivo. La cicatrización de heridas o la reparación de heridas es el proceso natural del cuerpo para regenerar el tejido dérmico y epidérmico. El proceso de cicatrización de heridas comprende diferentes sucesos que permiten la reparación del tejido dañado de forma parcial o completa. Esta compleja cascada de sucesos comienza desde el momento de la lesión y continúa por períodos de tiempo variables según la gravedad de la herida. El proceso puede clasificarse ampliamente en tres etapas; fase inflamatoria (que consiste en el establecimiento de la homeostasis y la inflamación); fase proliferativa (que consiste en granulación, contracción y epitelización) y finalmente la fase de remodelación y maduración que determina la fuerza y la apariencia del tejido cicatrizado¹.

Muchos de los medicamentos disponibles para el tratamiento de heridas no solo son costosos, sino que también provocan efectos secundarios como hipersensibilidad y resistencia². Debido a esto, el uso de medicamentos complementarios para una gran variedad de condiciones se ha incrementado, ya que este tipo de medicamentos son mucho más económicos y seguros. En los últimos años existe un creciente interés en el potencial de estos medicamentos para ser utilizados en dermatología, particularmente en el área de cicatrización³. Esto ha llevado a la realización de diversas investigaciones con una gran gama de extractos de plantas y otros productos como los aceites esenciales, que se han utilizado tradicionalmente como agentes de curación de heridas⁴. Recientemente, los aceites esenciales han recibido una aceptación masiva en las industrias farmacéutica y alimentaria, debido a su variedad de aplicaciones y sus efectos terapéuticos⁵.

Los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare* L.) han sido estudiados en variedad de propiedades biológicas y farmacológicas, que incluyen propiedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas y antiinflamatorias; las cuales son atribuidas a su composición rica en terpenoides como el carvacrol y el timol.

Sin embargo, estudios sobre los efectos de los aceites esenciales de orégano en procesos dérmicos como la cicatrización son escasos, a pesar de que estos aceites esenciales han ganado popularidad en productos para el cuidado de la piel⁶.

El principal objetivo de este estudio fue evaluar las propiedades cicatrizantes de los aceites esenciales de las hojas de orégano sobre heridas experimentales (inducidas por incisión) en ratas Wistar albino. Además, los aceites esenciales obtenidos fueron caracterizados por el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) con el fin de determinar sus principales componentes. Los resultados obtenidos darán una idea del potencial del aceite esencial de las hojas de orégano, probado como un método alternativo efectivo en el proceso de curación de heridas.



HIPÓTESIS

Dado que existen antecedentes en la medicina tradicional que las hojas de *Origanum vulgare* L. han sido usadas en la curación de heridas, por poseer propiedades cicatrizantes; es probable que la obtención del aceite esencial de esta planta presente actividad cicatrizante sobre heridas experimentales en ratas Wistar albino.

OBJETIVOS

1. Obtener los aceites esenciales de las hojas del *Origanum vulgare* L. mediante el método de hidrodestilación utilizando el aparato de Clevenger.
2. Caracterizar los aceites esenciales de las hojas del *Origanum vulgare* L. por el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
3. Preparar geles utilizando diferentes concentraciones de los aceites esenciales de las hojas del *Origanum vulgare* L. y determinar la concentración óptima de estos aceites esenciales en forma de gel, que presenten actividad cicatrizante sobre heridas experimentales en ratas Wistar albino.
4. Comparar el efecto cicatrizante de los geles con aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. con un gel comercial.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. Piel

1.1. Concepto

La piel representa uno de los órganos más grandes del cuerpo, dependiendo del tamaño del cuerpo y la masa, pesa entre 3.5 y 10 Kg y tiene un tamaño de 1.5 a 2 m². La piel cubre toda la superficie externa del cuerpo humano y es el principal sitio de interacción con el mundo circundante⁷.

1.2. Partes

La piel está compuesta por tres partes principales: la epidermis, la dermis y la hipodermis. La estructura de la piel se muestra en la **Fig. 1**.

1.2.1. Epidermis

La epidermis es la capa más externa de la piel. Está compuesta principalmente de células muertas (queratinocitos) que están firmemente unidas. Esta capa de la piel se renueva constantemente, por medio de la formación de nuevas células en las capas inferiores de la epidermis. Estas se mueven hacia la superficie dentro de un periodo aproximado de cuatro semanas, donde se endurecen y luego se desprenden. Esta renovación constante sirve para reemplazar las células que se pierden y caen al suelo cuando se frota la piel. Dependiendo de la parte del cuerpo donde se encuentre, la epidermis varía en grosor. Por ejemplo, tiene solo 0.3 milímetros de grosor en los codos y la parte posterior de las rodillas, y hasta 4 milímetros de grosor en las plantas de los pies y las palmas de las manos⁷.

Además, la epidermis también contiene otros tipos de células con funciones especiales, tales como (a) los melanocitos que producen y almacenan un pigmento negro llamado melanina. Producen más melanina cuando la piel está expuesta a la luz solar, por lo que se vuelve más oscura. La melanina nos protege de los rayos UV dañinos del sol; (b) los linfocitos y las células de Langerhans juegan un papel importante en la lucha contra los gérmenes. Estos "agarran" a los gérmenes y los llevan al nódulo linfático más cercano y (c) las células de Merkel que son células nerviosas especiales en la piel que permiten sentir la presión. Asimismo, la epidermis se puede dividir en tres capas: estrato corneo, estrato espinoso y estrato basal⁸.

1.2.2. Dermis

Debajo de la epidermis, firmemente adherida a ella, se encuentra la capa media de la piel (la dermis). Está formado por una densa red de fibras de colágeno elásticas y resistentes. Estos hacen que la piel sea fuerte y robusta, mientras que al mismo tiempo es elástica. Si la piel se estira mucho, por ejemplo, la piel que cubre el vientre de una mujer embarazada, la dermis podría romperse. La dermis rota se puede ver como líneas claras (estrías)⁷.

La dermis contiene una red de fibras nerviosas y vasos sanguíneos muy pequeños llamados capilares. Los nutrientes y el oxígeno de la sangre pasan de los capilares a las células. La otra función principal de los capilares es ayudar a que su cuerpo se enfríe si hace demasiado calor. La dermis es también la capa de la piel que contiene las células sensoriales, las glándulas sudoríparas, colágeno y fibras de elastina⁹.

1.2.3. Hipodermis

La hipodermis también conocida como la capa subcutánea o subcutis, está compuesto principalmente de grasa y tejido conectivo. Existen pliegues de la dermis que se abultan en la hipodermis, entre estos pliegues hay pequeñas

cavidades. Estas cavidades están llenas de tejido de almacenamiento hecho de grasa y agua. La grasa actúa como un amortiguador, protegiendo los huesos y las articulaciones de golpes. Sirve también como aislante. Además, muchas hormonas se producen en las células grasas de la hipodermis. Un ejemplo es la vitamina D, que es una vitamina esencial y se produce cuando la piel está expuesta a la luz solar. Además, la hipodermis contiene vasos sanguíneos y vasos linfáticos, así como nervios, glándulas sudoríparas, glándulas sebáceas, glándulas de olor y raíces capilares⁷.

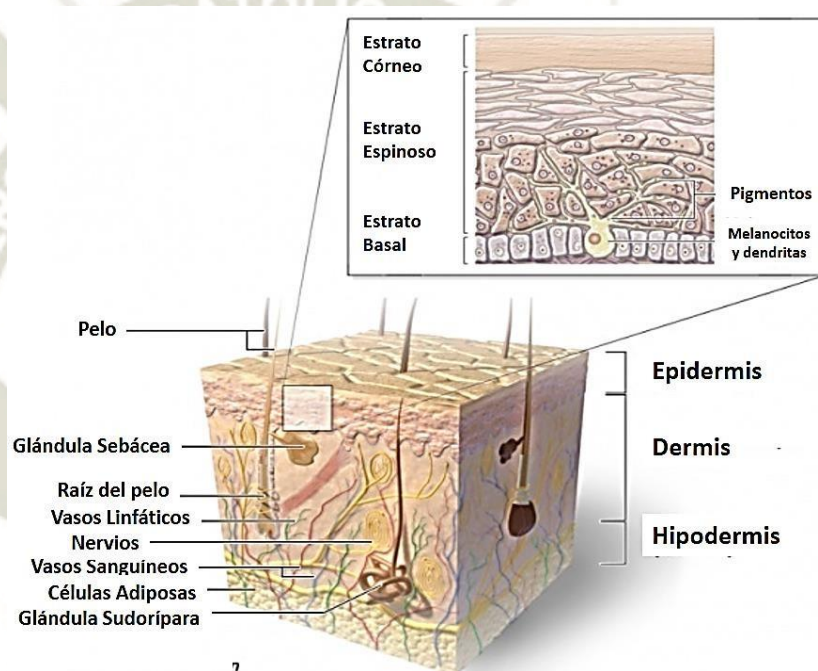


Fig. 1 Estructura de la piel⁷.

1.3. Funciones

La piel tiene múltiples funciones. Su principal función es la protección, ya que es la primera barrera física que tiene el cuerpo humano contra los daños potenciales del entorno externo. Los mediadores inflamatorios como las prostaglandinas, los eicosanoides, los leucotrienos, las histaminas y las citoquinas se sintetizan y segregan de los queratinocitos y regulan la respuesta inmune de la piel. Las moléculas que absorben UV, que incluyen melanina, ácido transurocánico, metabolitos de vitamina D y C y proteínas de choque térmico también se expresan

en los queratinocitos y desempeñan un papel importante en las funciones térmicas y de barrera a los rayos UV. Los sistemas antimicrobianos en la piel están mediados principalmente a través de los lípidos de la superficie, la acidificación de la superficie de la piel, las proteínas de unión al hierro y los péptidos antimicrobianos. La función de barrera de la permeabilidad, que impide el movimiento transcutáneo del agua y otros electrolitos importantes, son las funciones defensivas más importantes para la vida terrestre¹⁰.

La piel es responsable del inicio de los procesos bioquímicos que conducen a la producción de vitamina D, que es esencial para la absorción de calcio y el metabolismo óseo normal. También es un regulador térmico que ayuda a los humanos a conservar energía en forma de calor. Por lo tanto, ayuda a mantener nuestra temperatura corporal normal (basal) y ayuda a mantener el equilibrio homeostático del agua en el cuerpo. La piel produce hormonas y factores de crecimiento. Sirve como un transductor nervioso, que transmite información sensorial del entorno externo al sistema nervioso. También participa en la secreción de productos exocrinos como el sebo, el sudor y las feromonas, y ejerce funciones inmunológicas importantes a través de la secreción de sustancias bioactivas como las citoquinas. La piel también funciona como un gran almacén para el cuerpo, la capa más profunda de la piel puede almacenar agua, grasa y productos metabólicos. Asimismo, el solo hecho de mirar la piel de alguien ya puede decirle mucho, por ejemplo, sobre su edad y salud. Los cambios en el color o la estructura de la piel pueden ser un signo de una afección médica. Por ejemplo, las personas con muy pocos glóbulos rojos en la sangre pueden verse pálidos, y las personas que tienen hepatitis tienen la piel amarillenta¹¹.

2. Heridas

2.1. Concepto

La alteración de la integridad de la piel, las superficies mucosas o los tejidos de los órganos da como resultado la formación de una herida. Esto puede ir desde

una simple ruptura de la integridad epitelial de la piel o puede ser más profunda, extendiéndose al tejido subcutáneo provocando un daño a otras estructuras como los tendones, los músculos, los vasos, los nervios, los órganos del parénquima e incluso el hueso. Las heridas pueden ocasionarse debido al proceso de una enfermedad o tener una etiología accidental o intencional. La herida, independientemente de la causa y de la forma que sea, daña el tejido e interrumpe el entorno local que lo rodea. Una respuesta fisiológica al factor nocivo produce hemorragia, contracción de los vasos sanguíneos por medio de la coagulación, activación del complemento y una respuesta inflamatoria¹².

2.2. Tipos de heridas

Las heridas se pueden clasificar según diversos criterios. El tiempo es un factor importante en el manejo de lesiones y la curación de las heridas. Por lo tanto, las heridas pueden clasificarse clínicamente como agudas y crónicas de acuerdo con su tiempo de curación¹³.

2.2.1. Heridas agudas

Las heridas que se reparan a sí mismas y que proceden normalmente siguiendo una vía de cicatrización oportuna y ordenada, con un resultado final que conlleva a la restauración funcional y anatómica, se clasifican como heridas agudas. El curso temporal de la cicatrización generalmente oscila entre 5 y 10 días, o dentro de los 30 días. Las heridas agudas pueden ser adquiridas como resultado de la pérdida traumática de un tejido o un procedimiento quirúrgico¹³.

2.2.2. Heridas crónicas

Las heridas crónicas son aquellas que no logran progresar en las etapas normales de cicatrización y no pueden repararse de manera ordenada y oportuna. El proceso de cicatrización es incompleto y perturbado por diversos factores. Estos factores incluyen infección, hipoxia tisular, necrosis, exudado y exceso de niveles de citoquinas inflamatorias. Un estado continuo de inflamación en la

herida crea una cascada de respuestas tisulares, que juntas perpetúan un estado no curativo. Debido a que la cicatrización continúa de manera no coordinada, los resultados funcionales y anatómicos son deficientes y estas heridas recaen con frecuencia. Las heridas crónicas pueden ser el resultado de varias causas, como la presión, la insuficiencia arterial y venosa, las quemaduras y la vasculitis¹³.

2.3. Complicación de heridas

Una herida complicada es una entidad especial y se define como una combinación de una infección y un defecto tisular. La infección representa una amenaza constante para la herida. La causa del defecto, por el contrario, evoluciona debido a la etiología traumática o postinfecciosa. Cada herida está contaminada independientemente de la causa, el tamaño, la ubicación y el tratamiento. La aparición de una infección depende de la virulencia, el número y el tipo de microorganismos, así como del suministro local de sangre y de la resistencia inherente del paciente. Las características típicas de la infección son los cinco signos y síntomas que han sido bien documentados: enrojecimiento, calor, dolor, edema y pérdida o función limitada en la parte afectada¹⁴.

2.4. Evaluación de las heridas

La mayoría de las heridas, de cualquier etiología, cicatrizan sin dificultad. Sin embargo, algunas heridas están sujetas a factores que impiden la cicatrización, aunque no evitan la cicatrización si las heridas se tratan de manera adecuada. Una minoría de heridas se volverán crónicas y no curativas¹⁵.

2.4.1. Tamaño de la herida

El tamaño de la herida debe evaluarse de forma constante. Esta evaluación proporciona un medio por el cual se puede identificar el cierre de la herida con el paso del tiempo¹⁶.

2.4.2. Borde de la herida

El examen del borde de la herida puede ayudar a identificar su etiología. Por ejemplo, las úlceras venosas de la pierna generalmente tienen bordes suavemente inclinados; las úlceras arteriales a menudo aparecen bien demarcadas y "perforadas"; y los bordes enrollados o evertidos deben levantar la sospecha de malignidad¹⁶.

2.4.3. Sitio de la herida

El sitio de la herida puede ayudar al diagnóstico; las úlceras del pie diabético a menudo surgen en áreas de distribución de presión anormal que surgen de la arquitectura desordenada del pie. La ulceración venosa se produce principalmente en el área de la pierna. Las úlceras que no sanan, a veces en sitios inusuales, deben provocar la consideración de malignidad¹⁶.

2.4.4. Profundidad

Según la profundidad de la propia herida, se pueden clasificar en (a) superficiales o simples, dentro de estas entrarían todas las que solo afectan a la epidermis, sin afectar a elementos nobles (vasos, nervios, tendones); (b) profundas, cuando se extienden más allá del tejido celular subcutáneo afectando a varios tejidos, piel, músculo o huesos; (c) penetrantes, cuando alcanzan una cavidad natural del organismo, como puede ser la cavidad peritoneal o el espacio pleural, sin lesionar vísceras u órganos y (d) perforantes, afectan a las cavidades, penetrando y llegando a lesionar¹⁶.

2.4.5. Granulación

El tejido de granulación saludable es de color rosado y es un indicador de curación. La granulación no saludable es de color rojo oscuro, a menudo sangra al contacto y puede indicar la presencia de infección de la herida. El exceso de granulación o sobregranulación también puede estar asociado con infección o heridas que no cicatrizan. Las heridas crónicas pueden estar cubiertas

por tejido fibrinoso blanco o amarillo brillante; este tejido es avascular, y la curación solo se producirá cuando se elimine¹⁶.

2.4.6. Tejido necrótico, esfacelo y escara

El lecho de la herida puede estar cubierto con tejido necrótico (tejido no viable debido a un suministro sanguíneo reducido), esfacelo (tejido muerto, generalmente de color crema o amarillo) o escara (tejido necrótico seco, negro y duro). Tal tejido impide la curación. Dado que el tejido necrótico también puede albergar organismos patógenos, la eliminación de dicho tejido ayuda a prevenir la infección de la herida¹⁶.

2.4.7. Infección

Todas las heridas abiertas están colonizadas. Los signos clásicos de infección son calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor. Los signos adicionales de infección de la herida incluyen aumento del exudado, retraso en la cicatrización, hemorragia de contacto, olor y tejido de granulación anormal¹⁶.

2.4.8. Dolor

El dolor es un rasgo característico de muchas heridas curativas y no curativas. El dolor puede ser causado tanto por estímulos nociceptivos como neuropáticos. El dolor constante puede surgir como resultado de la afección subyacente, como isquemia, neuropatía, daño tisular crónico e infección¹⁶.

3. Cicatrización

3.1. Concepto

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 la reparación de las heridas¹⁷.

Los intentos de restaurar la lesión inducida por una agresión local comienzan muy temprano en la etapa inflamatoria. Al final, dan como resultado la reparación, que consiste en la sustitución de estructuras especializadas provocadas por la deposición de colágeno y la regeneración, que corresponde al proceso de proliferación celular y diferenciación posterior a través de células preexistentes en el tejido y/o células madre. Estos mecanismos no se excluyen mutuamente, es decir, después de una lesión cutánea, en el mismo tejido, puede producirse regeneración y reparación, dependiendo de las cepas celulares comprometidas por la lesión¹⁸.

3.2. Proceso de la cicatrización

La lesión inicia una compleja cascada de eventos celulares y bioquímicos, que da como resultado una herida cicatrizada. El proceso de cicatrización de la herida se puede dividir en cuatro fases separadas, pero superpuestas: hemostasia e inflamación, proliferación, maduración y remodelación, y contracción de la herida⁸. En la **Fig. 2** se muestra de forma gráfica las fases del proceso de cicatrización.

3.2.1. Hemostasia e inflamación

En una respuesta inflamatoria vascular, los vasos sanguíneos lesionados se contraen y la sangre filtrada se coagula, lo que contribuye al mantenimiento de su integridad. La coagulación consiste en una agregación de trombocitos en una red de fibrina, basándose en la acción de factores específicos a través de la activación y agregación de estas células. La red de fibrina, además de restablecer la homeostasis y formar una barrera contra la invasión de microorganismos, organiza la matriz temporal necesaria para la migración celular, que a su vez restaura la función de la piel como barrera protectora, manteniendo la integridad de la piel. Esto también hace posible la migración celular al microambiente de la lesión y la estimulación de la proliferación de fibroblastos¹⁹.

La respuesta celular en la etapa inflamatoria se caracteriza por la afluencia de leucocitos en el área de la herida. Tal respuesta es muy rápida y

coincide con los signos clave de la inflamación, que se revelan por el edema y el eritema en la ubicación de la lesión. Normalmente, la respuesta celular se establece dentro de las primeras 24 horas y puede extenderse hasta por dos días. También se puede producir una activación rápida de las células inmunes en el tejido, como ocurre con los mastocitos, las células gamma-delta y las células de Langerhans, que secretan quimiocinas y citoquinas. La inflamación es una respuesta tisular localizada y protectora desencadenada por la lesión que causa la destrucción del tejido. Las células inflamatorias desempeñan un papel importante en la cicatrización de heridas y contribuyen a la liberación de enzimas lisosómicas y especies reactivas de oxígeno (ROS), así como facilitar la limpieza de diversos restos celulares¹⁹.

Los neutrófilos son conocidos por expresar muchas citocinas proinflamatorias y una gran cantidad de sustancias antimicrobianas altamente activas, como las ROS, péptidos catiónicos y proteasas en la ubicación de la lesión. La respuesta inflamatoria continúa con el reclutamiento activo de los neutrófilos en respuesta a la activación del sistema del complemento, la desgranulación de plaquetas y los productos de degradación bacteriana. Estos son atraídos por muchas citocinas inflamatorias producidas por plaquetas activadas, células endoteliales y productos de degradación de patógenos. De esta forma, los neutrófilos son las células primarias activadas y reclutadas que desempeñan un papel en la limpieza del tejido y contribuyen a la muerte de los agentes invasores²⁰.

Pocas horas después de la lesión, una cantidad de neutrófilos transmigran a través de las células endoteliales presentes en las paredes capilares de la sangre, que son activadas por citoquinas proinflamatorias (interleucina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interferón gamma (IFN- γ)) en la ubicación de la lesión. Tales citoquinas promueven la expresión de muchas clases de moléculas de adhesión. Estas moléculas de adhesión son un factor determinante para la diapedesis de los neutrófilos, incluyendo selectinas e integrinas²⁰.

A partir de las 48 horas del inicio de la lesión, se intensifica la migración de los monocitos de los vasos sanguíneos vecinos, que también infiltran el área de la lesión, y, con la generación de los nuevos perfiles de expresión génica, se diferencian en macrófagos. Estos, que se activan a través de la señalización de quimioquinas, pueden actuar como células que presentan antígenos y que ayudan a los neutrófilos en la fagocitosis. Los macrófagos liberan factores de crecimiento, que son comúnmente necesarios para la activación y propagación de tejido nuevo en el área lesionada. Los macrófagos realizan las funciones de la fagocitosis de los desechos musculares, así como la producción y liberación de citocinas; factores proangiogénicos, inflamatorios y fibrogénicos, y de radicales libres. Además, los macrófagos, al secretar los factores quimiotácticos, atraen a otras células inflamatorias a el área de la herida. También producen prostaglandinas, que funcionan como potentes vasodilatadores, afectando la permeabilidad de los microvasos sanguíneos. Juntos, tales factores causan la activación de las células endoteliales, las cuales producen citoquinas capaces de estimular la formación de tejido de granulación¹⁷.

3.2.2. Proliferación

Cuando la lesión en curso ha cesado, se ha logrado la hemostasia y se ha establecido con éxito una respuesta inmune, comienza la reparación del tejido. El objetivo de la etapa proliferativa es disminuir el área lesionada del tejido por contracción y fibroplasia, estableciendo una barrera epitelial viable para activar los queratinocitos. Esta etapa es responsable del cierre de la lesión en sí misma, que incluye angiogénesis, fibroplasia y reepitelización. Estos procesos comienzan en el microambiente de la lesión dentro de las primeras 48 horas y pueden desarrollarse hasta el día 14 después del inicio de la lesión¹².

La remodelación vascular provoca cambios en el flujo sanguíneo. La angiogénesis es un proceso coordinado, que implica proliferación celular endotelial, ruptura y reordenamiento de la membrana basal, migración y asociación en estructuras tubulares, y el reclutamiento de células perivasculares.

La revascularización de la herida procede en paralelo con la fibroplasia. La angiogénesis ocurre por una combinación de proliferación y migración. Los brotes capilares brotan de los vasos sanguíneos adyacentes a la herida y se extienden dentro del espacio de la herida. Las células endoteliales del lado de la vénula más cercana a la herida comienzan a migrar en respuesta a estímulos angiogénicos. Estos brotes capilares finalmente se ramifican en sus puntas y se unen para formar lazos capilares, a través de los cuales la sangre comienza a fluir. Nuevos brotes luego se extienden de estos bucles para formar un plexo capilar¹⁸.

Los fibroblastos aparecen en números significativos en la herida el tercer día después de la lesión y alcanzan cifras máximas alrededor del séptimo día. La rápida expansión de la población de fibroblastos en el sitio de la herida es el resultado de una combinación de proliferación y migración. Los fibroblastos son atraídos por la herida e inducidos a proliferar por las citoquinas liberadas inicialmente de las plaquetas y, posteriormente, de los macrófagos y los linfocitos. Los fibroblastos son el elemento sintético principal en el proceso de reparación y son responsables de producir la mayoría de las proteínas estructurales necesarias para la reconstrucción del tejido. El principal producto proteico de los fibroblastos es el colágeno, una familia de glicoproteínas de triple cadena que forman el constituyente principal de la matriz de la herida extracelular. Estos son los últimos responsables de impartir resistencia a la tensión a la cicatriz. El colágeno se detecta por primera vez en la herida alrededor del tercer día después de la lesión. Los niveles luego aumentan rápidamente durante aproximadamente 3 semanas. Continúa acumulándose a un ritmo más gradual durante hasta 3 meses después de la herida⁸.

Mientras el tejido de granulación y la síntesis de colágeno avanzan hacia la profundidad de la herida, la integridad epitelial se restablece en la superficie de la herida. La epitelialización de la herida comienza a las pocas horas de la lesión. Las células epiteliales que surgen de los márgenes de la herida y los apéndices epiteliales dérmicos residuales dentro del lecho de la herida

comienzan a migrar debajo de la costra y sobre el tejido conectivo viable subyacente. La epidermis inmediatamente adyacente al borde de la herida comienza a engrosarse dentro de las 24 h después de la lesión. Las células marginales basales en el borde de la herida pierden su firme adhesión a la dermis subyacente, se agrandan y comienzan a migrar a través de la superficie de la matriz provisional, llenando la herida. Las células basales fijas en una zona cerca del borde cortado sufren una serie de divisiones mitóticas rápidas y migran moviéndose unas sobre otras en forma de salto hasta que se cubre el defecto. Una vez que el defecto ha sido puentado, las células epiteliales migratorias pierden su apariencia aplanada, se vuelven más columnares e incrementan su actividad mitótica. Se restablece la formación de capas del epitelio y la capa superficial finalmente se queratiniza. La epitelialización se completa en menos de 48 h en heridas incisas aproximadas, pero puede llevar mucho más tiempo en heridas más grandes en las que existe un defecto significativo del tejido⁸.

3.2.3. Maduración y remodelación

La maduración y remodelación de la herida, que comienza de dos a tres semanas después del inicio de la lesión y puede durar un año o más. El objetivo principal de la etapa es lograr la máxima resistencia a la tracción a través de la reorganización, la degradación y la resíntesis de la matriz extracelular. En esta etapa se produce un intento de recuperar la estructura tisular normal, y el tejido de granulación se remodela gradualmente, formando tejido cicatricial que es menos celular y vascular, y exhibe un aumento progresivo en su concentración de fibras de colágeno¹².

Esta etapa está marcada por la maduración de los elementos con cambios profundos en la matriz extracelular y la resolución de la inflamación inicial. Tan pronto como la superficie de la lesión está cubierta por una monocapa de queratinocitos, cesa su migración epidérmica y se restablece una nueva epidermis estratificada con una lámina basal subyacente desde los bordes de la herida hasta su porción interna. En esta etapa, hay una deposición de la matriz y

un cambio posterior en su composición. Con el cierre de la herida, el colágeno de tipo III sufre degradación y aumenta la síntesis de colágeno de tipo I. A lo largo de la remodelación, hay una reducción en el ácido hialurónico y fibronectico, que son degradados por las células y la metaloproteinas plasmática, y la creciente expresión de colágeno tipo I mencionada anteriormente se procesa de manera concomitante²¹.

El aumento de la tasa de síntesis de colágeno durante la curación se debe no solo al aumento del número de fibroblastos en la herida sino también a un aumento neto de la producción de colágeno por cada célula. La estructura de la matriz también cambia con el tiempo. La dermis normal muestra un patrón similar a un tejido de cesta, mientras que las fibras de colágeno más delgadas están dispuestas paralelas a la piel en una cicatriz. Estas fibras de colágeno más delgadas se espesan gradualmente después de las heridas y se organizan a lo largo de la línea de tensión de la herida. Esto se acompaña de una mayor resistencia a la tracción de la cicatriz, lo que indica una correlación positiva entre el grosor de la fibra y la orientación con la resistencia a la tracción. Además, durante esta etapa, la mayoría de los vasos sanguíneos, fibroblastos y células inflamatorias desaparecen del área de la herida debido a procesos de emigración, apoptosis u otros mecanismos desconocidos de muerte celular. Este hecho conduce a la formación de una cicatriz con un número reducido de células²¹.

A pesar de una fase de remodelación continua y prolongada, la orientación de las fibras de colágeno en el tejido cicatricial no se vuelve tan organizada como en la dermis intacta. Es claramente sabido, que la fuerza para romper cicatrices es siempre menor que la fuerza para dañar la piel no lastimada. Un curso temporal de la fuerza de ruptura muestra que después de 1 semana la herida tiene solo un 3% y después de 3 semanas un 20% de su resistencia final. Después de 3 meses, la cicatriz tiene cerca del 80% de la fuerza de la piel no dañada y no se produce ningún aumento adicional⁸.

La contracción de la herida es la aproximación de los bordes de la herida, mientras que la contractura de la herida es el acortamiento de la cicatriz misma. Se ha postulado que una célula especial, el miofibroblasto, es responsable de la contracción, mientras que otra teoría sugiere que la locomoción de todos los fibroblastos conduce a una reorganización de la matriz y la contracción²².

Los miofibroblastos adquieren algunas propiedades de contracción de las células musculares lisas, acercándose a los bordes de la herida y haciéndose responsables de su contracción. De esta manera, las células de referencia presentan bandas bien desarrolladas de microfilamentos contráctiles compuestos de actina. Es importante señalar que los miofibroblastos son los principales productores de la matriz extracelular en procesos de fibrosis¹⁸.

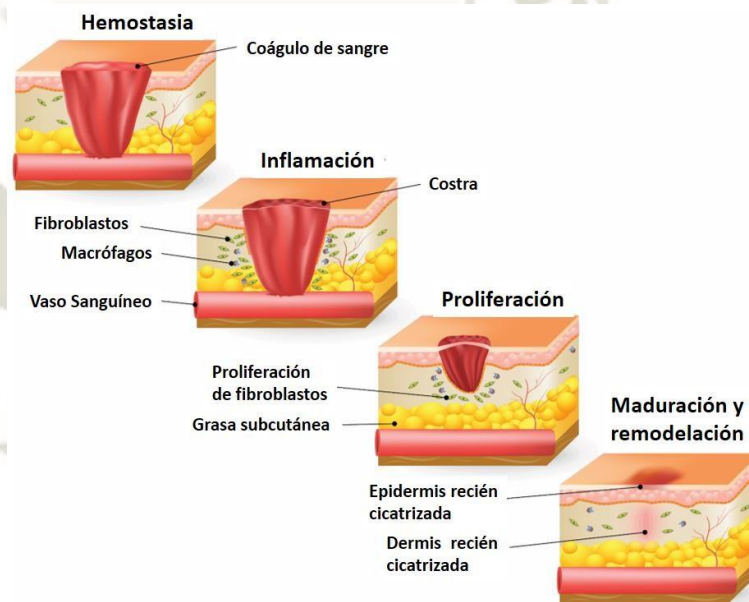


Fig. 2 Etapas del proceso de cicatrización²³.

En todas las etapas citadas anteriormente, es importante enfatizar que los factores exógenos y endógenos pueden modular dichos eventos e influir en el proceso de cicatrización. Más específicamente, los trastornos sistémicos, tales como la diabetes, la inmunosupresión, la estasis venosa, así como los que resultan de agentes externos, tales como el uso de corticoterapia y el tabaquismo,

pueden obstaculizar el cierre temprano de la herida. Además de estos factores que complican es la aparición de cicatrices hipertróficas y queloides¹⁸.

3.3. Tratamiento

El objetivo principal en el tratamiento de las heridas es lograr una cicatrización rápida con resultados estéticos y funcionales óptimos. Esto se logra mejor mediante la prevención de infecciones y proporcionando un ambiente que optimice la cicatrización de la herida. Todas las heridas deben limpiarse a fondo con agua del grifo o solución salina. Un ambiente húmedo para la herida acelera la cicatrización, al evitar la deshidratación celular y estimular la síntesis de colágeno y la angiogénesis, mejorando así la estética y reduciendo el dolor, el riesgo de infección y los costos de la atención²⁴.

Se puede crear un ambiente húmedo cubriendo la herida con un agente antimicrobiano tópico (sulfadiazina de plata, acetato de mafenida, bacitracina y mupirocina) o aplicando un vendaje oclusivo que reduzca la pérdida de líquido por evaporación. Los vendajes líquidos de cianoacrilato de venta libre son efectivos para heridas limpias y simples. Los vendajes oclusivos son menos dolorosos y más convenientes para los pacientes y pueden acelerar la cicatrización, aunque son más costosos que los antibióticos tópicos y los vendajes de gasa. Sin embargo, en algunas circunstancias, el hecho de que los apósitos oclusivos deban cambiarse con menos frecuencia puede hacer que sean más rentables²⁴.

El tratamiento tópico con antisépticos, apósitos a base de plata, apósitos hiperosmóticos y otros apósitos que soportan el desbridamiento autolítico proporcionan una reducción de amplio espectro en la carga microbiana. Se pueden usar agentes tópicos adicionales al principio del tratamiento de la herida para reducir los microorganismos contaminantes. Diversos agentes antimicrobianos tópicos están disponibles, tales como la sulfadiazina de plata, nitrofurazona, gentamicina, etc²⁵.

Años atrás, la curación únicamente se realizaba en ambiente seco, dejando las heridas al aire o cubriéndolas con un apósito estéril (gasa). Este ambiente retrasaba la cicatrización debido a que la ausencia de humedad provoca que las células epidérmicas tendiesen a desplazarse hacia el interior de la herida, con lo que se retrasaba su cicatrización; las células sanas se deshidratan, se necrosan y se forma una costra que se fija a los extremos inferiores de la herida mediante fibras de colágeno que impiden la aparición de tejido nuevo²⁶.

Múltiples estudios han demostrado la eficacia de la aplicación de apósitos que permiten un equilibrio de la humedad que impide la desecación, por una parte, y la maceración, por otra, lo que favorece la correcta curación de la herida. A través de la cura húmeda se disminuye el dolor, se ejerce un papel preventivo al evitar la fricción, se consigue un efecto barrera frente a microorganismos externos, se reduce el tiempo de cicatrización y se obtienen menores tasas de infección respecto a la cura seca. Existen diferentes tipos de apósitos que permiten mantener la humedad como los alginatos, hidrocoloides, hidrogeles, poliuretanos, etc²⁶.

3.4. Fármacos cicatrizantes

En este ámbito, se utilizan los fármacos y cosméticos cicatrizantes y protectores dermatológicos. Como bien indica su nombre, los primeros son esencialmente productos destinados a favorecer la recuperación de la piel lesionada y devolverla a su estado normal. Los segundos intentan evitar las alteraciones cutáneas antes de que se produzcan. Para conseguir este propósito estos preparados incluyen en su composición diferentes tipos de principios activos, entre los que cabe citar: cicatrizantes (como la centella asiática o el retinol), antisépticos (óxido de cinc, bálsamo del Perú), desbridantes (clostridiopeptidasa A, proteasas, etc.), bactericidas (neomicina, cloruro de benzalconio, etc.), humectantes (propilenglicol) y anestésicos locales (benzocaína)²⁷.

El extracto de centella asiática ayuda a promover, proteger y acelerar la cicatrización de heridas, quemaduras y ulceraciones. Su actividad farmacológica

podría deberse a la acción sinérgica de varios de sus componentes. Por un lado, actúa incorporando y fijando al colágeno, alanina y prolina, con lo que estimula la formación del tejido de granulación, y por otro, facilita la correcta epitelización al estimular la biosíntesis de glucosaminoglicanos. Asimismo, el retinol es un derivado de la vitamina A que estimula el buen funcionamiento de la piel, actuando sobre los procesos oxidativos previniendo la formación de radicales libres, permitiendo una adecuada cicatrización²⁷.

Entre los nuevos principios activos que ayudan a la cicatrización tenemos al complejo tripéptido-cobre, el cual estimula la neovascularización, la deposición de colágeno, la contracción de la herida y la epitelización. Se puede usar en la fase inflamatoria tardía y reparación temprana para estimular la formación del tejido de granulación y puede ser apropiada para estimular la cicatrización de heridas crónicas isquémicas abiertas²⁸.

3.5. Plantas medicinales con actividad cicatrizante

Mientras que los agentes terapéuticos actuales generalmente tienen una eficacia inadecuada y un número de efectos adversos graves, las plantas medicinales se han utilizado en medicina desde la antigüedad y algunas de ellas presentan la capacidad para promover la curación de heridas y prevenir la infección sin graves efectos secundarios. Por lo tanto, la terapia plantas medicinales puede ser una estrategia alternativa para el tratamiento de las heridas²⁹.

Se ha reportado distintas plantas medicinales que poseen actividad de cicatrizante de heridas en animales, tales como *Aloe vera*, *Catharanthus roseus*, *Sesamum indicum*, *Peperomia galioides*, *Anredera diffusa*, *Jatropha curcas*, *Origanum vulgare*, etc³⁰.

Asimismo, existe una tendencia general que sugiere que los aceites esenciales poseen propiedades curativas, y hay un comienzo de comprensión sobre qué elementos de su composición podrían tener las llaves de esos beneficios. Entre sus

propiedades medicinales, los aceites esenciales tienen el potencial de jugar un papel importante en la curación de heridas. Sin embargo, actualmente existen pocas investigaciones que estudien las propiedades de los aceites esenciales sobre la cicatrización de las heridas. Los aceites esenciales de lavanda, manzanilla, te, tomillo, etc. han mostrado poseer características que benefician el proceso de cicatrización de heridas³¹.

3.6. Modelos animales para los estudios de cicatrización

Los modelos animales se utilizan comúnmente en la investigación de heridas en un intento de replicar problemas humanos de curación de heridas como quemaduras, dehiscencia, isquemia, úlceras venosas o por presión, infecciones y cicatrices. El uso de un modelo in vivo es inevitable al tratar de obtener información sobre la naturaleza multifactorial del proceso de cicatrización de la herida, que puede verse influida por factores introducidos externamente o por la presencia de una patología subyacente³².

La ética prohíbe el uso de humanos en algunos estudios de curación de heridas, especialmente en personas con problemas de curación de heridas que ya están en riesgo de curación demorada o detenida, lo que daña más. Una de las ventajas de usar modelos animales, como las ratas, es que el proceso de curación de heridas se acelera; esto hace posible estudiar el proceso en días en lugar de semanas requeridas para los seres humanos. Otra ventaja importante del uso de modelos animales es la capacidad de estandarizar el tipo, tamaño, forma y profundidad de la lesión de la herida, lo que facilita la comparación de los datos entre estudios³².

Las ratas se han utilizado ampliamente en el estudio de la curación de heridas en la piel y la eficacia de diferentes modalidades de tratamiento. Esta especie de animal en particular a menudo se selecciona por su disponibilidad, bajo costo y tamaño pequeño. Modelos incisionales y excisionales comúnmente utilizan el dorso de la rata como la ubicación de la herida y se han implementado en numerosos estudios de curación de heridas. Los sitios dorsales tienden a ser más efectivos para

evitar que el animal alcance y manipule la herida. Las ratas y los humanos comparten las siguientes características de la piel: la presencia de una epidermis, membrana basal, folículos pilosos y dermis. Obviamente, existen numerosas diferencias anatómicas y fisiológicas entre humanos y ratas. Entre las diferencias se encuentra el hecho de que las ratas no forman queloides ni cicatrices hipertróficas, pero las personas de ciertos grupos étnicos, como los afroamericanos y los asiáticos, están predispuestas a una cicatrización excesiva³².

3.6.1. Modelos de incisión

Los modelos de incisión se usan para evaluar la fuerza de las incisiones sanadoras a lo largo del tiempo, así como también los agentes que estimulan o afectan la cicatrización incisional. Una incisión realizada a través de la piel se cierra con suturas o grapas o se deja cicatrizar espontáneamente. Cuando los bordes incisionales se vuelven a aproximar y se suturan o engrapan, la curación se producirá principalmente por reepitelización (curación de iniciación primaria) en 1-2 días con una contracción mínima³³.

Los bisturís y las tijeras son los instrumentos quirúrgicos más comunes utilizados para crear una herida lineal de espesor total que se puede suturar cerrada. Este es uno de los modelos más utilizados en la investigación de curación de heridas (**Fig. 3**). Una cuchilla afilada que corta la piel provoca una rápida alteración de la integridad del tejido con un mínimo daño colateral³³.

Inmediatamente después de la incisión, hay extravasación de plasma y células sanguíneas en el nuevo espacio, y depende de la extensión y el momento de la hemostasia, la formación de un coágulo de fibrina que actuará como un puente entre los márgenes de la lesión y cebará la herida para su curación tan pronto como se realice la herida³³.

Este método permite analizar el tiempo de cicatrización, la resistencia a la rotura de la herida, la histología, la inmunohistología, el contenido de colágeno y proteínas³².

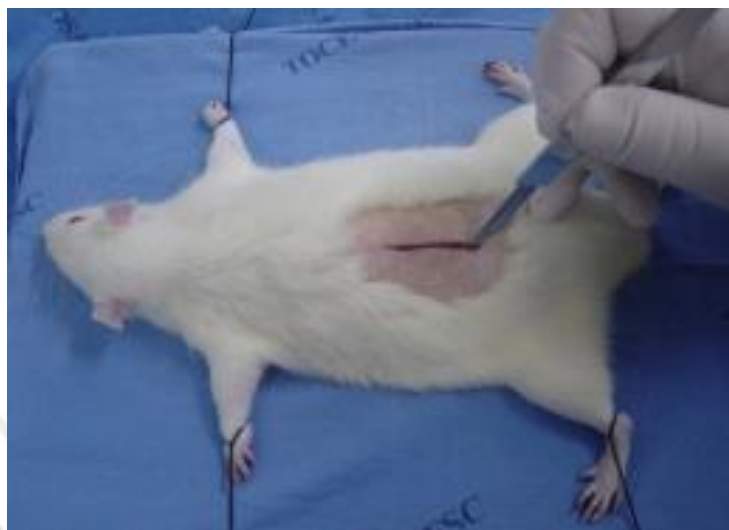


Fig. 3 Modelo de incisión en el dorso de una rata.³⁴

4. *Origanum vulgare* L.

4.1. Clasificación taxonómica

Según el Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS), la especie vegetal utilizada en el presente trabajo de investigación pertenece a³⁵:

- Reino: *Plantae*
- Subreino: *Viridiplantae*
- Infrarreino: *Streptophyta*
- Superdivisión: *Embryophyta*
- División: *Tracheophyta*
- Subdivisión: *Spermatophytina*
- Clase: *Magnoliopsida*
- Superorden: *Asteranae*
- Orden: *Lamiales*
- Familia: *Lamiaceae*
- Género: *Origanum* L.
- Especie: *Origanum vulgare* L.

4.2. Sinonimia

4.2.1. Sinonimia Científica

Mentha formosana (C. Marquand) S.S.Ying, *Micromeria formosana* C. Marquand, *Origanum albiflorum* K.Koch, *Origanum americanum* Raf. *Origanum anglicum* Hill, *Origanum barcense* Simonk. *Origanum capitatum* Willd. ex Benth., *Origanum creticum* L., *Origanum decipiens* Wallr. ex Benth., *Origanum dilatatum* Klokov, etc³⁶.

4.2.2. Sinonimia Vulgar

Orégano, orégano común, mejorana silvestre, orenga, órgano, oriégano, perigüel, etc³⁶.

4.3. Introducción y descripción botánica

El orégano es el nombre común para un aroma y sabor general derivado principalmente de una plétora de géneros y especies vegetales utilizados en todo el mundo como especias, pero por lo general se refiere al género *Origanum*, el orégano europeo, cuyo nombre se deriva de las palabras griegas “oros”, montaña y colina, y “ganos”, ornamento. Al menos 61 especies de 17 géneros que pertenecen a seis familias se mencionan con el nombre de orégano. La familia *Lamiaceae* (*Labiatae*) se considera el grupo más importante que contiene el género *Origanum*, que proporciona la fuente de especias de orégano conocidas: turca y griega. El *Origanum vulgare* L. es uno de los principales representantes de este género³⁷.

El *O. vulgare* L. es una hierba perenne, con raíces rastreras, tallos leñosos ramificados y hojas opuestas, pecioladas y peludas. Las flores están en corimbos con brácteas rojizas, una corola púrpura pálida de dos labios y un cáliz de cinco dientes. En climas moderados, el período de floración se extiende desde fines de junio hasta agosto. Cada flor produce, cuando está madura, cuatro estructuras

pequeñas similares a semillas. El follaje está salpicado de pequeñas glándulas que contienen compuestos volátiles que le dan a la planta su aroma y sabor. En la Fig. 4 se muestran las características botánicas del *O. vulgare* L.³⁷.



Fig. 4 *Origanum vulgare* L.³⁸.

4.4. Origen y distribución geográfica

El *O. vulgare* L. es originario de las islas del sur de Grecia, particularmente de Creta, y de las zonas costeras de la Grecia continental a altitudes de hasta 1500 m.s.n.m.³⁷ El cultivo del orégano tiene éxito en todos los tipos de terreno ricos en materia orgánica, sueltos, silíceos arcillosos, francos, humíferos, calcáreos, arcilloso - arenosos e incluso en lugares áridos. Dependiendo de la frecuencia de riego y, posteriormente, del rendimiento, se permiten dos o tres cosechas de la cosecha anualmente. La recolección de las hojas y las puntas del tallo debe comenzar cuando las plantas estén en la etapa de floración. En climas secos, el mejor tiempo de cosecha para recolectar la mayor cantidad de aceite esencial es cuando el 50% de las plantas en el campo han comenzado a florecer³⁶.

Esta planta se encuentra ampliamente distribuida alrededor del mundo. El orégano crece de forma silvestre en toda Europa y el Reino Unido. También se encuentra en África del Norte, Asia y América. En el Perú, los principales departamentos donde se da el cultivo de Orégano son Arequipa, Moquegua,

Áncash, Huaraz y Tacna; siendo este último el primer productor de este producto en el Perú³⁹.

4.5. Descripción fitoquímica

Aunque se han aislado abundantes compuestos químicos del orégano, el grupo más importante, desde un punto de vista comercial y de aplicación, se refiere a sus aceites volátiles, compuestos básicamente por terpenoides. El orégano proporciona un aceite esencial (al menos 25 ml/kg) generalmente rico en carvacrol y/o timol (**Fig. 5**). Su composición química varía ampliamente según el quimiotipo y según el período de cosecha. Con mayor frecuencia, el carvacrol es predominante (contenido entre 40-70%) y se acompaña de γ -terpineno (8-10%), p- cimeno (5-10%), mirceno, limoneno, ocimeno, cariofileno, β -bisaboleno, germacreno, α -pineno, canfeno, α -terpineno, α -felandreno⁴⁰.

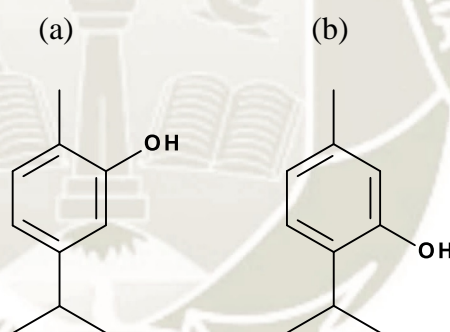


Fig. 5 (a) Carvacrol y (b) Timol.

4.6. Usos y propiedades farmacológicas

El comercio de orégano se ha establecido desde tiempos clásicos. Los recipientes de cerámica conocidos como ánforas se utilizaron ampliamente en toda la región mediterránea como contenedores baratos y desechables para el transporte marítimo de productos básicos a granel. Se ha informado de la identificación del ADN de orégano antiguo de dos ánforas de hace 2400 años excavadas en un sitio de naufragio en aguas profundas en el Mediterráneo, frente a la isla de Chios, en el

Egeo griego. Aparentemente, el orégano se mezcló con aceite como un aditivo herbal para dar sabor y preservación³⁷.

El orégano se usa en carnes, embutidos, ensaladas, guisos, aderezos y sopas. La industria alimentaria utiliza aceite de orégano y resina de orégano tanto en alimentos como en bebidas, y también se utiliza en cosméticos. El aceite de orégano se usa en bebidas alcohólicas, productos horneados, productos cárnicos, condimentos, productos lácteos, vegetales procesados, bocadillos y aceites. Es la especia más común para pizza. Junto con la pimienta negra, es un ingrediente común de los aderezos y un buen sustituto de la sal de mesa. Aumenta el aroma en platos de verduras como la sopa de guisantes y guisos hechos de verduras mixtas, setas y espárragos. El orégano es un aditivo antioxidante eficaz en diferentes tipos de alimentos, como la mayonesa y el aderezo francés. Esta propiedad generalmente se atribuye al alto contenido de carvacrol de la especia³⁷.

Tradicionalmente se utiliza en el tratamiento sintomático de trastornos digestivos como hinchazón epigástrica, digestión lenta, eructos, flatulencia; afecciones bronquiales agudas; antipruriginoso en afecciones dermatológicas; analgésico en afecciones de la cavidad oral y/o faringe; etc. Asimismo, se le ha atribuido actividades farmacológicas como antibacteriano, antifúngico, antiparasitario, cicatrizante, antioxidante, analgésico, antiinflamatorio, hipoglucemiante, etc.³⁶ Además, se ha reportado que el aceite esencial del orégano posee actividad antimicrobiana, antifúngica y antioxidante⁴¹.

5. Aceites Esenciales

Se reconoce que las plantas proporcionan fuentes potenciales de diferentes clases de componentes químicos, conocidos como fitoquímicos, como terpenoides, alcaloides, compuestos fenólicos, glucósidos, que son productos efectivos para el control o tratamiento de diversas enfermedades. Los aceites esenciales (AE) y sus principales compuestos, los monoterpenos, se encuentran entre las clases más

prometedoras de productos naturales que pueden usarse como agentes más seguros para el control de plagas y enfermedades⁴².

5.1. Definición

Los aceites esenciales, también conocidos como esencias, aceites volátiles o aceites etéricos, son productos naturales formados por varios compuestos volátiles. Según la Organización Internacional de Normalización de Aceites Esenciales y la Farmacopea Europea, un aceite esencial se define como el producto obtenido de materia prima vegetal mediante hidrodestilación, destilación al vapor, destilación seca o mediante un adecuado proceso mecánico (para cítricos). Los aceites esenciales se asocian frecuentemente con gomas y resinas que son separados por el proceso de destilación⁴³.

5.2. Localización

Los aceites esenciales son líquidos oleosos aromáticos extraídos de materiales de plantas aromáticas. Se pueden biosintetizar en diferentes órganos de plantas como metabolitos secundarios, como flores (jazmín, rosa, lavanda), hierbas, brotes (clavo de olor), hojas (eucalipto, salvia), frutas (anís), corteza (canela), ralladura (cítricos), semillas (cardamomo), madera (sandalia), rizoma y raíces (jengibre). Entre las especies de plantas, solo el 10% contiene aceites esenciales y se llaman plantas aromáticas (aproximadamente 17,000 especies de plantas, distribuidas en todo el mundo). Los géneros en los que se pueden encontrar se clasifican en un pequeño número de familias: *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Asteraceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae*, *Cupressaceae* y *Piperaceae*⁴⁴.

En la naturaleza, los aceites esenciales desempeñan un papel muy importante en los procesos de defensa y señalización de las plantas. Por ejemplo, los aceites esenciales están involucrados en la defensa de plantas contra microorganismos, insectos y herbívoros, la atracción de insectos polinizadores, la regulación del agua y las interacciones alelopáticas⁴³.

5.3. Composición química

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles extraídos de un gran número de plantas. En general, representan una pequeña fracción de la composición de la planta (menos del 5% de la materia vegetal seca) y comprenden principalmente terpenos (isoprenos) y terpenoides. Entre los terpenos tenemos a los monoterpenos (tienen 10 átomos de carbono y representan más del 80% de la composición del AE) y los sesquiterpenos (tienen 15 átomos de carbono). Podrían presentar estructuras acíclicas de hidrocarburos, así como estructuras mono, bi o tricíclicas. En cuanto a los terpenoides tenemos a los isoprenoides que son derivados oxigenados de los terpenos como alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, fenoles, éteres y ésteres. Algunos AE contienen otra clase de moléculas oxigenadas que son fenilpropanoides y sus derivados. Se encuentran en casos especiales (canela, clavo de olor)⁴⁴.

Los terpenos representan una clase muy grande de hidrocarburos naturales muy abundantes. El bloque de construcción fundamental de los terpenos es la unidad de isopreno (2-metil-1,3-butadieno). Está representado por la fórmula estructural general $(C_5H_8)_n$, donde n es el número de unidades de isopreno enlazadas. La clasificación de los terpenos se basa en el número de unidades de isopreno. Los monoterpenos consisten en dos unidades de isopreno ($2 \times C_5$) y tienen fórmula molecular $(C_{10}H_{16})$ mientras que los sesquiterpenos contienen tres unidades de isopreno ($3 \times C_5$) y tienen una fórmula molecular $(C_{15}H_{24})$ ⁴⁴.

Debido a su naturaleza hidrofóbica y su densidad a menudo más baja que la del agua, generalmente son lipófilos, solubles en solventes orgánicos, inmiscibles con agua. Podrían separarse de la fase acuosa por decantación. Sin embargo, sus rendimientos son muy bajos (alrededor del 1%), lo que los convierte en sustancias raras de gran valor⁴³.

5.4. Obtención

Los aceites esenciales se pueden obtener por hidrodestilación, vapor-hidrodestilación o destilación por arrastre de vapor. De hecho, estos son los métodos

más tradicionales y comúnmente utilizados. Cuando la solubilidad de un determinado aceite esencial en agua es alta, como en el caso del geranio, la rosa o la lavanda, se puede utilizar otro proceso, a saber, la cohobación. Otros procesos para obtener aceites esenciales incluyen la maceración, así como técnicas más modernas como extracción con solventes, fluidos supercríticos y microondas. Una alternativa a la destilación que evita la alteración química del producto final es la extracción con fluidos supercríticos utilizando CO₂. Este proceso tiende a dejar inalterados los compuestos lábiles y una amplia gama de otros principios⁴⁵.

En general, los aceites esenciales se obtienen por destilación con vapor o hidrodestilación de diferentes partes de la planta, incluida toda la planta o solo raíces, hojas, flores, tallos, frutas o semillas. Las plantas pueden ser frescas, parcialmente deshidratadas o secas, pero las flores, deben ser frescas⁴⁵.

En la hidrodestilación, una de las principales formas de realizarla es utilizando el aparato de Clevenger. Este aparato consta de una pieza de cristalería específica, como se puede observar en la **Fig. 6**. Presenta un matraz de fondo redondo, de tamaño variable, que contiene agua que se hierve y a la planta con el AE. El vapor asciende en el conjunto a un condensador y el condensado cae en la bureta. El AE flota en el agua, que por su parte se devuelve gradualmente al matraz calentado a través del conducto diagonal. Después de la extracción, el volumen de AE recogido en la bureta se puede medir directamente⁴⁶.

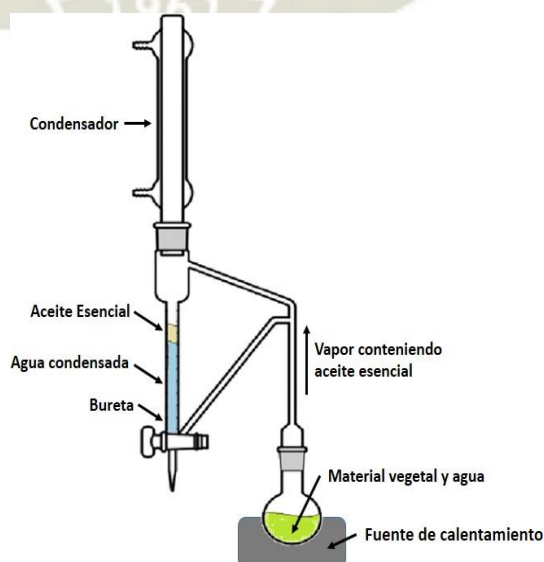


Fig. 6 Partes del aparato de Clevenger⁴⁷.

5.5. Control y análisis

La identificación de componentes de aceites esenciales se lleva a cabo generalmente con la ayuda de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) equipada con detector de ionización de llama (FID) y detectores de MS y una columna capilar (30 m × 0.25 mm, espesor de película 0.25 μm). La cromatografía de gases permite separar los compuestos volátiles y semivolátiles, pero no siempre los detecta selectivamente, mientras que la espectrometría de masas permite detectar selectivamente muchos compuestos, pero no siempre los separa; por lo tanto, se complementan adecuadamente. Las condiciones de prueba pueden variar dependiendo de la columna y la muestra. Normalmente, el helio se usa como gas portador a una velocidad de flujo de 0.7- 1.0 ml/min, las muestras se diluyen (1/10 v/v), y el volumen inyectado es de 0.2 μL. Los resultados generalmente se procesan con un programa de búsqueda espectral de masas de la biblioteca⁴⁵.

5.6. Aplicaciones

Los aceites esenciales tienen aplicaciones industriales en la fabricación de perfumes, cosméticos, jabones, champús o geles de limpieza⁴⁵.

Otro aspecto interesante de estos aceites es su potencial como agentes terapéuticos en aromaterapia o como principios activos o excipientes de medicamentos. Estos aceites se utilizan como expectorantes para el tratamiento de la tos y la bronquitis (eucalipto), como agentes antimicrobianos (salvia, árbol del té y clavo de olor), como un descongestionante del tracto respiratorio (menta), y como un carminativo (anís), entre otros usos. El aceite de clavo se utiliza en odontología por sus propiedades antisépticas y analgésicas, mientras que el aceite de árbol de té se utiliza en dermatología como un agente antiacné debido a su actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas⁴⁸.

Otra aplicación importante de aceites esenciales se encuentra en la industria agroalimentaria, se utilizan en una amplia variedad de bienes de consumo, como

productos alimenticios de confitería, refrescos y bebidas alcohólicas destiladas. Además de su uso generalizado como material aromatizante, se utilizan en los campos nutricional y agrícola por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, nematocidas, insecticidas y antioxidantes. Debido a esto, se ha sugerido su uso como antioxidantes y conservantes en los alimentos⁴⁹.



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material biológico

El presente estudio se realizó en ratas Wistar albino de cuatro semanas de edad, aparentemente sanas, obtenidas del bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

Asimismo, se utilizó hojas de *Origanum vulgare* L. (orégano), del cual se extraerán los aceites esenciales. Se estableció la especie de este material vegetal en el Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

2. Reactivos, materiales y equipos

2.1. Reactivos

- Agua destilada
- Pentobarbital sódico
- Yodopovidona
- Etanol
- Tween 80
- Nitrofurazona 0.2 %

2.2. Materiales

- Pera de decantación
- Probeta de 10, 50 y 100mL
- Picnómetro
- Pipetas 1, 2, 5 y 10mL
- Micropipeta de 1000mL

- Fiolas de 10, 25, 50 y 100 mL
- Vaso de precipitados 100 y 250 mL
- Matraz Erlenmeyer 100 mL
- Hilo de sutura N° 000
- Aguja curva N° 09
- Bisturí
- Afeitadora
- Jeringa de 1 mL

2.3. Equipos

- Equipo de destilación por arrastre de vapor
- Balanza analítica
- Cromatógrafo de gases
- Refractómetro
- Balanza analítica
- Estufa
- Tensiómetro

3. Métodos

3.1. Obtención de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L.

3.1.1. Procesamiento del material vegetal

Se recolectó aproximadamente 6 kilogramos de *Origanum vulgare* L. (orégano), del distrito de Huambo, provincia de Caylloma. Se seleccionó las hojas en buen estado, libre de cualquier contaminación, suciedad o anomalía aparente y fueron secadas a temperatura ambiente (20°C) bajo sombra. Posteriormente se trituró las hojas, haciendo uso de una licuadora.

3.1.2. Extracción de los aceites esenciales

La extracción de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. se realizó utilizando el método de hidrodestilación, con el equipo Clevenger que se observa en la **Fig. 7**. Tomando 150 g del material vegetal triturado y llevado al balón de extracción que contiene 2 L de agua destilada.



Fig. 7 Equipo Clevenger, utilizado para extraer aceites esenciales del orégano.
Fuente: Elaboración propia

3.1.3. Rendimiento de extracción

Para determinar el porcentaje de rendimiento de extracción (%RE) de los aceites esenciales de orégano, se utilizó la **Ecuación (1)**, en el que el porcentaje de rendimiento de extracción corresponde a la proporción de la cantidad de aceites esenciales (AE) y la cantidad de orégano utilizado (ambos en gramos), multiplicado por 100. En el presente estudio se realizó el procedimiento de extracción 40 veces y el %RE corresponde a la media aritmética de los mismos.

$$\%RE = \frac{\text{Volumen del AE}}{\text{Peso del orégano}} \times 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

3.2. Caracterización de los aceites esenciales

3.2.1. Análisis fisicoquímico y organoléptico

Se efectuó el análisis organoléptico de los aceites esenciales de *O. vulgare* L. Este análisis es la valoración cualitativa que se realiza mediante el empleo de los sentidos (olfato, vista y tacto).

3.2.1.1. Densidad relativa

La densidad relativa de los aceites esenciales de orégano corresponde a la proporción de las densidades de los aceites esenciales (ρ_{AE}) y del agua (ρ_{H_2O}) a una determinada temperatura, tal como se muestra en la **Ecuación (2)**.

$$\rho_{\text{relativa}}(AE) = \frac{\rho_{AE}}{\rho_{H_2O}} \quad \text{Ecuación (2)}$$

Por lo que es necesario determinar la densidad de los aceites esenciales, el mismo que fue hallado utilizando un picnómetro de 10 mL y se utilizó la **Ecuación (3)**.

$$\rho_{AE} = \frac{P_{AE} - P_0}{\text{Vol. P.}} \quad \text{Ecuación (3)}$$

Donde:

ρ_{AE} : Es la densidad de los aceites esenciales de orégano

P_{AE} : Es el peso del picnómetro conteniendo los aceites esenciales

P_0 : Es el peso del picnómetro vacío

Vol. P.: Es el volumen del picnómetro utilizado (10 mL)

3.2.1.2. Solubilidad

Se evaluó la solubilidad de los aceites esenciales de orégano en agua destilada y en etanol, éste último se utilizó dos concentraciones: 70% y 96%. El procedimiento consistió en el uso de 1 mL del aceite esencial, al mismo que posteriormente se adicionó 0.5 mL de la solución de alcohol o agua destilada, tantas veces, hasta observar una sola fase entre los aceites esenciales y el disolvente, o hasta completar 10 mL. Éste ensayo se realizó a 20°C, utilizando una probeta de 10 mL con tapa y se intentó homogenizar cada vez que se agrega el etanol o agua destilada.

3.2.1.3. Índice de refracción

El índice de refracción de los aceites esenciales de orégano se determinó utilizando el refractómetro digital ABBE modelo WYA-S. La verificación del equipo se realizó determinando el índice de refracción del agua destilada, el mismo que es 1.333.

3.3. Composición química

Marriott Philip et al., señalan que la cromatografía de gases es el método ideal para el análisis de aceites esenciales; con el que se puede caracterizar los aceites esenciales, por los tipos de compuestos presentes⁵⁰.

Se analizó los aceites esenciales de orégano mediante cromatografía de gases, el mismo que se realizó utilizando el cromatógrafo de gases acoplado a espectro de masas (GC-MS), de marca Shimadzu GC-MS-QP2010 Ultra (**Fig. 8**); con el sistema de inyección splitless, empleando una columna capilar de sílice fundido Rtx-5MS de 30 metros de longitud, 0.25 mm de diámetro interior y 0.25 μm de espesor. La temperatura de fuente de ion fue 200°C y la de interface fue 240°C; el gas utilizado fue helio con un caudal de 1.8 mL/min. El análisis fue realizado en el rango de masa de 40 a 400m/z; todos los ajustes mencionados fueron realizados con el software GCMSsolution2.70. La identificación de los compuestos químicos se

realizó mediante la comparación de picos con la base de datos espectrales NIST/EPA/NIHLibrary (NIST 08).



Fig. 8 Cromatógrafo de gases acoplado a espectro de masas.
Fuente: Elaboración propia

3.4. Preparación de una forma farmacéutica conteniendo los aceites esenciales

En el presente estudio se elaboró un gel siguiendo el procedimiento de Dantas et al., cuya composición corresponde a: carbopol (1%), propilenglicol (7%), metilparabeno (0.1%) y tres diferentes concentraciones de los aceites esenciales de orégano (1%, 2% y 3%)⁵¹.

Para preparar el gel se dispersó cantidades necesarias de carbopol, propilenglicol y metilparabeno en agua destilada y se dejó en reposo durante 24 horas para completar el hinchamiento del carbopol; posteriormente, se mezcló con agitación continua, ultrasonido y en caliente, hasta formar el aspecto de gel. Se utilizó trietanolamina para regular el pH a un valor aproximado de 5. A continuación se dejó reposar esta dispersión durante una semana en un recipiente de plástico a temperatura ambiente. Al término de ese tiempo, tres diferentes cantidades de aceites esenciales de orégano se mezclaron con propilenglicol y posteriormente se mezcló con la dispersión de carbopol para obtener

concentraciones de 1%, 2% y 3% de aceites esenciales. Finalmente, el gel obtenido fue evaluado en cuanto a su consistencia, homogeneidad y pH.

Además, se preparó un gel en ausencia de los aceites esenciales de orégano con el fin de ser utilizado como un gel blanco (control negativo), para el estudio de la evaluación del efecto cicatrizante de los aceites esenciales mencionados.

3.5. Evaluación del efecto cicatrizante de los aceites esenciales

3.5.1. Inducción de heridas

La inducción de la herida en los animales de experimentación se realizó mediante el modelo de incisión. Las ratas fueron sedadas con una dosis de 50 mg/Kg de pentobarbital, antes y durante la inducción de la herida.

El área de incisión fue previamente afeitada y limpiada con yodopovidona. La incisión fue en la parte dorsal de la rata, siendo de una longitud de 3 cm, utilizando un bisturí estéril, y la profundidad fue hasta la hipodermis. Posterior a la incisión, la piel dividida se unió realizando puntos de sutura a intervalos de 0.5 cm.

3.5.2. Efecto cicatrizante de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L.

Luego de inducir y suturar la herida a todos los animales de experimentación (25 ratas), se dividió en cinco grupos, tal como se detallan a continuación:

- Grupo experimental 01: Se les aplicó el gel preparado conteniendo 1% de aceites esenciales de orégano.
- Grupo experimental 02: Se les aplicó el gel preparado conteniendo 2% de aceites esenciales de orégano.

- Grupo experimental 03: Se les aplicó el gel preparado conteniendo 3% de aceites esenciales de orégano.
- Grupo control (-): Se les aplicó el gel blanco preparado (sin aceites esenciales).
- Grupo control (+): Se les aplicó un gel cicatrizante comercial (Cicatricure).

A todos los animales de experimentación se les aplicó 0.1 mL de los preparados antes mencionados cada día durante un periodo de 21 días; considerándose como día cero cuando se indujo y suturó la herida. Siguiendo la metodología utilizada por Kokane et al.; en el 18^{vo} día de experimentación se retiró la sutura y al final (21^{vo} día), se midió la tensión de la piel (peso en gramos requerido para abrir la herida) utilizando un tensiómetro⁵².



Fig. 9 Tensiómetro
Fuente: Elaboración propia

3.6. Análisis estadístico

Los datos obtenidos llevados a una matriz de datos utilizando el software Microsoft Excel 2016, el mismo que también se utilizó para determinar el promedio aritmético, desviación estándar y error estándar de la media (SEM). El SEM es una

medida de precisión para una media poblacional estimada, el cual se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$SEM = \frac{\text{Desviación estándar}}{\sqrt{\text{Tamaño de la muestra (n)}}} \quad \text{Ecuación (4)}$$

Por otro lado, la comparación de los grupos experimentales se realizó utilizando un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey con el 95% de nivel de confianza, para lo cual se utilizó el software SigmaPlot 12.0.



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Obtención de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L.

La identificación botánica del material vegetal utilizado en este estudio se realizó en el HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA) que pertenece a la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Nacional de San Agustín, el cual por medio de una constancia (**Anexo 1**) certificó que la especie de este material vegetal fue *Origanum vulgare* L.

Tal como se señala en la parte metodológica (apartado 3.1), se realizó la obtención de los aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L, por medio del método de hidrodestilación utilizando el aparato de Clevenger. La **Fig. 10** muestra la obtención de los aceites esenciales que se encuentran en la bureta del aparato de Clevenger. Estos aceites esenciales presentan una menor densidad en comparación a la del agua, es por ello que se ubican por encima de esta.



Fig. 10 Aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L. por hidrodestilación (aparato de Clevenger).

Fuente: Elaboración propia

Se han reportado diversos estudios, en los cuales se ha empleado el aparato de Clevenger para la extracción de aceites esenciales, pudiéndose establecer que es un método de referencia para la obtención de este tipo de compuestos^{53,54}. Sin embargo, se ha mostrado algunas deficiencias importantes para esta técnica, como la dificultad para controlar la transferencia de calor de manera constante a lo largo del proceso y el extenso tiempo de extracción, lo que resulta en costos más altos y puede inducir la hidrólisis de algunos componentes tales como ésteres por reacción con el agua a altas temperaturas formando ácidos y alcoholes⁴⁶.

Por otro lado, se determinó el porcentaje de rendimiento de extracción (%RE) de los aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L. El %RE esta expresado en porcentaje volumen/peso (% v/p), que equivale a los mililitros de aceite esencial extraído por cada 100 gramos de material vegetal utilizado. En la **Tabla 1** se muestra los resultados obtenidos en cuanto al %RE, los cuales señalan un rendimiento promedio del 0.25 ± 0.03 %.

Tabla 1 Rendimiento de extracción de los aceites esenciales de las hojas de *Origanum Vulgare* L.

Nº de extracción	Hojas de Orégano (g)	Volumen de AE (mL)	Rendimiento (% v/p)	Nº de extracción	Hojas de Orégano (g)	Volumen de AE (mL)	Rendimiento (% v/p)
1	150.00	0.33	0.22	21	150.20	0.42	0.28
2	150.20	0.35	0.23	22	150.20	0.48	0.32
3	150.05	0.38	0.25	23	150.00	0.31	0.21
4	150.10	0.31	0.21	24	150.00	0.39	0.26
5	150.00	0.37	0.25	25	150.40	0.35	0.23
6	150.00	0.38	0.25	26	150.30	0.42	0.28
7	150.15	0.36	0.24	27	150.00	0.31	0.21
8	150.10	0.35	0.23	28	150.00	0.36	0.24
9	150.00	0.37	0.25	29	150.70	0.38	0.25
10	150.10	0.37	0.25	30	150.80	0.33	0.22
11	150.40	0.42	0.28	31	150.20	0.38	0.25
12	150.00	0.35	0.23	32	150.00	0.43	0.29
13	150.10	0.38	0.25	33	150.40	0.41	0.27
14	150.20	0.44	0.29	34	150.20	0.37	0.25
15	150.20	0.39	0.26	35	150.00	0.38	0.25
16	150.40	0.45	0.30	36	150.00	0.40	0.27
17	150.10	0.36	0.24	37	150.30	0.37	0.25
18	150.00	0.41	0.27	38	150.20	0.33	0.22
19	150.00	0.32	0.21	39	150.20	0.46	0.31
20	150.30	0.34	0.23	40	150.30	0.37	0.25
Promedio (\bar{X})							0.25
Desviación estándar (σ)							0.03

Fuente: Elaboración propia

En el estudio realizado por Bejaoui et al.⁵⁵, en el cual obtuvieron los aceites esenciales de las hojas de *O. vulgare* L. por medio de hidrodestilación utilizando el aparato de Clevenger; el cual presentó un %RE entre 0.6-1.7%, indicando que el rendimiento en la obtención de estos AE depende del tiempo de cosecha, estableciendo que en la etapa de floración el rendimiento desciende significativamente. El rendimiento obtenido en este estudio se realizó utilizando hojas de *O. vulgare* L. obtenidas en la etapa de floración, lo que podría explicar el relativo bajo rendimiento conseguido (0.26%). Además, se debe considerar que luego de la etapa de hidrodestilación, los aceites esenciales fueron secados con sulfato de sodio anhidro (etapa que no se realizó en la investigación realizada por Bejaoui et al.⁵⁵), lo que provocó una pérdida de los AE y por consiguiente una menor cantidad del mismo. Sin embargo, la etapa de secado es fundamental para obtener unos AE de mayor pureza.

2. Caracterización de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L.

2.1. Análisis fisicoquímico y organoléptico

Los aceites esenciales de *O. vulgare* L. mostraron un color amarillo claro, como se evidencia en la **Fig. 11**. En el estudio realizado por Asensio et al.⁵⁶ indican la obtención de aceites esenciales de *Origanum vulgare* los cuales mostraron una variedad de colores amarillos (oscuros, intermedios y claros), esta diferencia de tonalidades se debió a las distintas procedencias de cada material vegetal utilizado para la obtención de los AE, lo que afecta su composición y se ve evidenciada en su color.

En cuanto al olor de los AE obtenidos es *sui generis*, característico del orégano. Asimismo, Asensio et al.⁵⁶ describe el olor de estos AE como herbáceos, con notas medicinales, resinosas, de menta y coníferas. Por otro lado, los AE obtenidos evidenciaron una apariencia líquida, translúcida, untuosos al tacto y de sabor fuerte característico al orégano.



Fig. 11 Aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L.

Fuente: Elaboración propia

En la **Tabla 2** se resume las características fisicoquímicas de los AE de *O. vulgare* L. las cuales son descritas a continuación.

2.1.1. Densidad relativa

La densidad relativa de los aceites esenciales de *O. vulgare* L. fue de 0.9247 g/mL a una temperatura aproximada de 20 °C. Este valor se asemeja al obtenido por Tellez y Nolzco⁵⁷, las cuales obtuvieron unos aceites esenciales de orégano con una densidad relativa de 0.9132 g/mL. Además, cabe señalar que la separación de los AE con el agua después de la condensación del vapor está muy influenciada por las densidades relativas de los AE y el agua. Con diferencias significativas entre las densidades, la separación es más rápida y más completa, lo que conduce a una mayor recuperación de los AE. La densidad de los líquidos está influenciada por la temperatura, disminuyendo a medida que aumenta la temperatura⁵⁸. Este factor pudo haber sido un limitante en el rendimiento de los AE obtenidos en el presente estudio.

2.1.2. Índice de refracción

Los aceites esenciales de *O. vulgare* L. tuvieron un índice de refracción de 1.51, este valor tiene semejanza al índice de refracción reportado de 1.47

reportado por Tellez y Nolazco⁵⁷ para unos aceites esenciales obtenidos del mismo material vegetal. La determinación del índice de refracción es un parámetro importante para mantener un control de la pureza del AE establecido por la Farmacopea Europea⁵⁹. Si los AE tienen impurezas el índice de refracción aumentaría, debido a que estas impurezas provocarían que la luz viaje de forma más lenta a través de los AE.

2.1.3. Solubilidad

Los aceites esenciales de *O. vulgare* L. obtenidos fueron solubles en etanol al 96% en todas las proporciones. Sin embargo, para solubilizar un volumen de AE fueron necesarios nueve volúmenes de etanol al 70% (1:9). Por otro lado, en todas las proporciones, los AE fueron insolubles en el agua. Zuzarte y Salgueiro⁴³ señalan que la solubilidad de unos AE está relacionada con su composición, los AE con mayor cantidad de terpenos y terpenoides, son insolubles en agua debido a que no pueden formar puentes de hidrógeno con esta; y por lo tanto los AE con mayor cantidad en compuestos oxigenados, al poder formar puentes de hidrógeno son solubles en agua y en etanol diluido. Considerando esto se podría indicar que los AE de *O. vulgare* L. obtenidos poseerían una mayor cantidad de compuestos hidrocarbonados (terpenos y terpenoides) en comparación a los oxigenados, tomando en cuenta su solubilidad.

Tabla 2 Características fisicoquímicas de los aceites esenciales de *O. vulgare* L.

Característica	Valor	Valor Teórico
Densidad relativa (g/mL)	0.9247	0.9132
Índice de refracción	1.51	1.47
Solubilidad en etanol 96%	Miscible	Miscible
Solubilidad en etanol 70%	1:9	1:9
Solubilidad en agua	Inmiscible	Inmiscible

Fuente: elaboración propia, Tellez y Nolazco, Zuzarte y Salgueiro.

La abundancia de un pico es una medida relativa de la cantidad del compuesto presente y representada por el área del pico. Sin embargo, si se desea una cuantificación, se debe desarrollar una curva de calibración basada en el análisis de cantidades conocidas de ese compuesto o comparar con una base de datos preestablecida^{60,62}. Es por ello, que como se refiere en la parte metodológica (apartado 3.3), la identificación cualitativa y cuantitativa de los compuestos presentes en los aceites esenciales de *O. vulgare* L. se realizó comparando el tiempo de retención de los picos obtenidos con la base de datos espectrales NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 08). En la **Tabla 3** se muestran los principales compuestos identificados, en los aceites esenciales de *O. vulgare* L.

Tabla 3 Determinación de compuestos presentes en los aceites esenciales de *O. vulgare* L, por GC-MS.

Compuesto	Tiempo de retención (minutos)	Composición porcentual (%)
α -Pino	10.221	26.22
Cis- β -Terpineol	11.178	18.77
Acetato de linalilo	13.904	12.52

Fuente: elaboración propia.

Los principales componentes de los aceites esenciales de *O. vulgare* L. obtenidos en el presente estudio fueron el α -Pino (26.22%), cis- β -terpineol (18.77%) y acetato de linalilo (12.52%), los demás componentes se encuentran por debajo del 10%. Estos principales compuestos pertenecen al grupo de los monoterpenos, los cuales son compuestos que se encuentran normalmente en los aceites esenciales extraídos de muchas plantas, incluyendo frutas, verduras, especias y hierbas. Estos compuestos contribuyen al sabor y aroma de la planta de la que se extraen⁶³. Las estructuras químicas de los compuestos presentes en los aceites esenciales de *O. vulgare* L. se muestran en la **Fig. 13**.

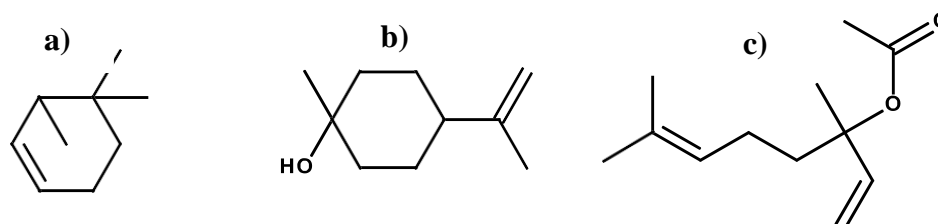


Fig. 13 Estructura química de los compuestos presentes en los aceites esenciales de *O. vulgare* L. **a)** α -pino, **b)** cis- β -terpineol y **c)** acetato de linalilo,

Las estructuras fueron tomadas de referencia de la base de datos del NIST Chemistry WebBook y desarrolladas por el software Symyx Draw 4.0⁶⁴.

Existen diversos estudios que reportan la composición de los aceites esenciales de *O. vulgare* L. Veres et al.⁴⁰ obtuvieron los aceites esenciales de las hojas de esta planta (procedente de Budapest - Hungría) por medio de la técnica de arrastre de vapor, encontrando que los compuestos presentes de forma mayoritaria fueron el p-cimeno (22.31%) y el cariofileno (10.26%). Tellez y Nolazco⁵⁷ obtuvieron los aceites esenciales de las hojas de *O. vulgare* L. (procedente de Tacna - Perú) por arrastre de vapor, al determinar su composición encontraron como los componentes principales al γ -terpineno (11.77%), 4-terpineol (26.56%) y timol (18.80%). Bejaoui et al.⁵⁵ reportaron la obtención de los aceites esenciales de *O. vulgare* L. (procedencia de Sidi Nsir – Túnez) por medio de hidrodestilación, encontraron que los principales componentes de estos AE fueron p-cimeno (9.87%), γ -terpineno (11.77%) y carvacrol (61.08%). Ozdemir et al.⁶⁵ extrajeron los aceites esenciales de las hojas *O. vulgare* L. (procedente de Ankara – Turquía) por hidrodestilación, en este estudio señalan que los principales componentes de estos AE son el γ -terpineno (17.60%), timol (14.67%) y carvacrol (45.07%). Kilic y Ozdemir⁶⁶ obtuvieron los aceites esenciales de las partes aéreas de *O. vulgare* L. (procedente de Elazig - Turquía) por hidrodestilación, detectando como componentes mayoritarios al timol (35.25%), carvacrol (8.69%) y γ -terpineno (15.12%). En el presente estudio, como se mencionó en el párrafo anterior, los principales compuestos en los aceites esenciales obtenidos fueron α -pineno (26.22%), cis- β -terpineol (18.77%), acetato de linalilo (12.52%) y (+)-4-careno (10.60%). En cuanto otros compuestos importantes se observó la presencia de timol (5.34%), linalol (1.60%), anisol (1.26%) y cariofileno (3.68%). Asimismo, se evidencio la ausencia de carvacrol, de forma similar al estudio de Veres et al.⁴⁰

Como se puede apreciar los diversos estudios reportados sobre la composición de los aceites esenciales de *O. vulgare* L. muestran una alta variabilidad en cuanto a sus componentes, esto podría estar relacionado con las distintas condiciones ambientales y climáticas, los períodos de muestreo estacionales, los orígenes geográficos, las poblaciones de plantas, las fases vegetativas de las plantas y los métodos de extracción y cuantificación; tal como lo refiere la investigación realizada por Teixeira et al.⁶⁷

2.3. Elaboración del gel

Utilizando los aceites esenciales de las hojas de *O. vulgare* L. se preparó los geles al 1%, 2% y 3% (**Fig. 14**), tomando el procedimiento descrito en la parte metodológica (apartado 3.4). En el estudio realizado por Medina y Bustinza⁶⁸, reportan la preparación de un gel antibacterial a base de *O. vulgare* L. utilizando como componentes al Carbopol (gelificante), glicerina (agente humectante) y trietanolamina (alcalinizante). La diferencia con la formulación del gel empleada en presente estudio fue que se utilizó como agente humectante al propilenglicol.

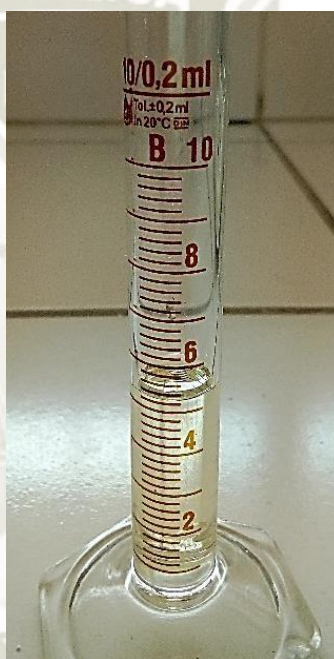


Fig. 14 Gel al 2% de aceites esenciales de *O. vulgare* L.
Fuente: elaboración propia.

2.3.1. Características del gel

Los geles obtenidos mostraron un color amarillento claro y homogéneo (como se observa en la **Fig. 14**), una consistencia semisólida y un olor característico a los aceites esenciales de *O. vulgare* L. De acuerdo a Kulkarni et al.⁶⁹ un gel consiste en partículas suspendidas en un medio de dispersión de forma homogénea. Por lo que la formulación obtenida en este estudio cumpliría con esta premisa.

Los valores de pH de todas las formulaciones se encontraron en el rango de 5.2-5.7. Tomando en cuenta lo reportado por Lambers et al.⁷⁰, el pH de la superficie natural de la piel es en promedio alrededor de 5, lo que es beneficioso para su flora residente. Por lo que, los geles utilizados en el presente estudio fueron ajustados a un pH cercano a 5.

2.4. Evaluación del efecto cicatrizante de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L.

2.4.1. Inducción de heridas

La **Fig. 15** muestra la incisión de 3 cm de longitud realizada en la piel dorsal de las ratas. El modelo de herida por incisión en animales experimentales es uno de los métodos más utilizados y reportados en distintas investigaciones, para evaluar el efecto cicatrizante de algún producto (extractos de plantas, materiales para nuevos vendajes, etc.).⁷¹⁻⁷³ La amplia aplicación de este método podría deberse a que permite investigar el proceso de curación de heridas, permitiendo determinar la resistencia a la rotura, histología, inmunohistología, contenido de colágeno y proteínas.³²



Fig. 15 Herida por incisión en el día 0.
Fuente: elaboración propia.

En el presente estudio se realizó la incisión en la zona dorsal, tal como lo han realizado en otras investigaciones^{74,75}. Kullander y Olsson sugirieron que al estudiar la cicatrización de heridas es importante comparar las heridas cutáneas

realizadas en posiciones exactamente correspondientes, debido a que las diferencias en la vascularización en distintas regiones de la piel pueden alterar la resistencia de las cicatrices, teniendo en cuenta que a mayor vascularización menor es la resistencia de la cicatriz. Teniendo en cuenta esto, en el trabajo presentado a continuación se tuvo mucho cuidado de realizar las incisiones en el mismo lugar en cada animal de experimentación.⁷⁶

2.4.2. Efecto cicatrizante de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L.

Una vez obtenidos los geles de diferentes concentraciones de aceites esenciales de *O. vulgare* L, se procedió a evaluar su efecto cicatrizante. Como se describe en la metodología (apartado 3.5.2), los animales de experimentación fueron divididos en cinco grupos experimentales. Los animales mostraron una aparentemente cicatrización completa de sus heridas en un tiempo de 12-15 días (**Fig. 16**); sin embargo, al grupo control negativo le tomo 18 días. La inspección visual de las heridas no mostró evidencia de sangrado de las heridas, exudado, pus o inflamación en ningún momento y todas ellas se curaron sin incidentes. Es por ello, que podría establecerse que los geles a diferentes concentraciones y el control positivo ayudaron a disminuir el tiempo de cicatrización. Asimismo, en el estudio realizado por Murthy et al.⁷⁷ se encontró que la tasa de contracción de la herida en ratas, con heridas por escisión y sin administración de ningún tratamiento, fue del 21.6% al 68.3% desde el día 4 al día 12 y del 80.6% al 98.1% desde el día 14 al día 18, mientras que en el día 22 se observó una completa epitelización y cicatrización. Estos datos concuerdan con lo encontrado en este estudio en cuanto al control negativo, el cual se trató con los excipientes del gel, pudiéndose establecer que estos excipientes presentan un bajo efecto cicatrizante.

En la investigación realizada por Lusby et al.⁷⁸ compararon el efecto cicatrizante de diversos aceites esenciales estableciendo que mejoran el tiempo de cicatrización. Asimismo, en el estudio realizado por Kokane et al.⁵², en el cual realizaron el método de incisión, reportaron que las heridas de las ratas mostraron una cicatrización completa al 8^{vo} día de realizada la herida. En este

tipo de heridas, cuando los bordes incisionales son reaproximados y suturados, la curación se produce principalmente por reepitelización (curación de iniciación primaria) mediante una contracción en el tejido⁷⁹.



Fig. 16 Herida por incisión en el día 5, tratada con gel al 2% de aceites esenciales de *Origanum vulgare* L.

Fuente: elaboración propia.

La resistencia a la tracción de una herida representa el grado de curación de la herida. Por lo general, los agentes cicatrizantes promueven una ganancia en la resistencia a la tracción⁸⁰. Como se señala en la parte metodológica, las suturas se eliminaron el veinteavo día después de la herida y se midió la fuerza de resistencia a la tracción, el vigésimo primer día. La fuerza de resistencia a la tracción de la piel, es el peso en gramos requerido para romper la cicatriz, se midió mediante un tensiómetro (**Fig. 17**). Este método para evaluar el efecto cicatrizante con preparados tópicos es utilizado en diversas investigaciones,^{75,81,82} lo que demuestra su aceptación en el campo científico.



Fig. 17 Aplicación del tensiómetro para establecer la fuerza de resistencia a la tracción de la cicatriz.

Fuente: elaboración propia.

No se mostró infección en ninguna de las heridas, esto sugiere que la acción del aceite esencial de *O. vulgare* en la herida no se debería únicamente a su actividad antibacteriana y que tendría acciones adicionales, independientes y beneficiosas dentro de la herida, tal vez en la remodelación del tejido o eventos inflamatorios, tal como se refiere en el estudio de Lusby et al.,⁷⁸ donde encontró hallazgos similares en los aceites esenciales de *Lavandula xallardii* y *Brassica napus*.

La **Fig. 18** muestra la fuerza de resistencia a la tracción de las cicatrices con cada grupo experimental. Los grupos que mostraron una mayor fuerza de resistencia y por lo tanto un mayor grado de curación de la herida fueron los animales experimentales tratados con gel al 2 y 3% de aceites esenciales de *O. vulgare* L. Asimismo, el grupo control negativo (excipientes del gel) presentó la menor resistencia a la tracción.

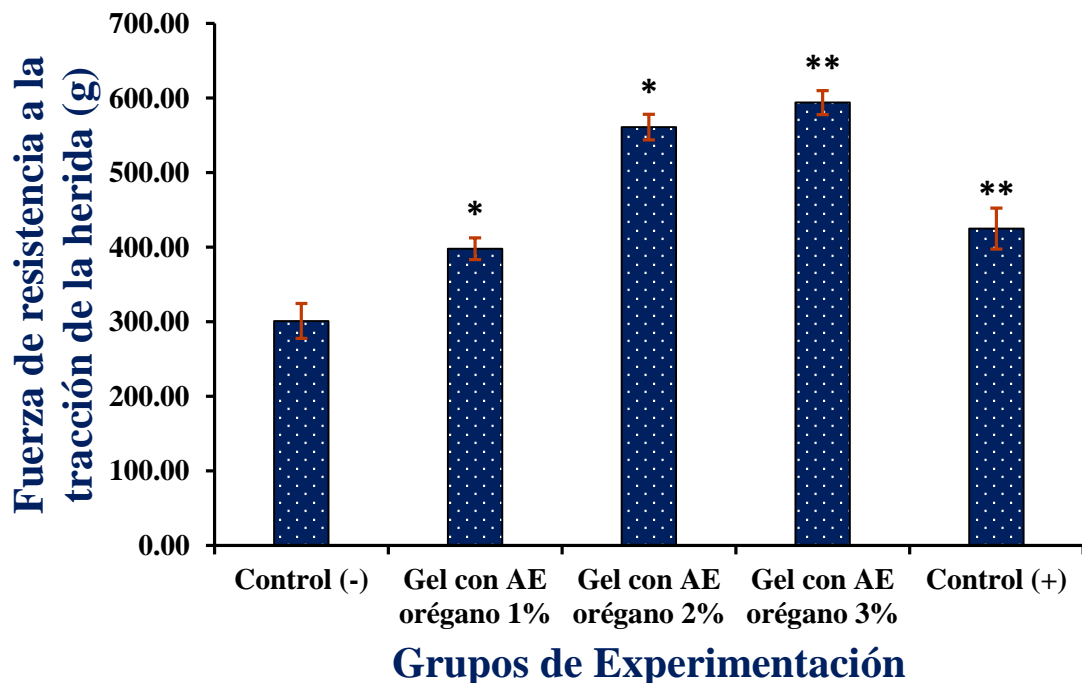


Fig. 18 Comparación entre fuerza de resistencia a la tracción de las cicatrices de los grupos establecidos en el diseño experimental. Los valores son presentados como promedio \pm SEM (n = 5). Con diferencia significativa entre todos los grupos, * (p<0.05). ANOVA seguido de la prueba de Tukey.

Fuente: elaboración propia

En el estudio publicado por Han y Parker,⁸³ en el cual estudian unos aceites esenciales de *O. vulgare* L. en células cutáneas humanas, donde observaron la inhibición de biomarcadores de remodelación tisular. Además, estos aceites esenciales modularon significativamente las vías de señalización alteradas, involucradas en procesos de inflamación y remodelación tisular. Los resultados dados en esta investigación podrían explicar en cierta medida el posible mecanismo de acción de los aceites esenciales de *O. vulgare* L.

De acuerdo a Memariani et al.,⁸⁴ el α -pineno podría ser el agente responsable en el efecto protector de los aceites esenciales de *Pistacia atlantica* contra la úlcera gástrica, por ser su constituyente principal. Asimismo, el terpineol y acetato de linalilo son monoterpenos que muestran efecto antiinflamatorio, principalmente el primero que tiene una alta actividad inhibitoria sobre la COX-2.⁸⁶ Además, la investigación de Riella et al.⁸⁵ señalan que el timol es un compuesto prometedor para ser utilizado en el tratamiento de procesos inflamatorios, así como en la cicatrización de heridas. Las acciones farmacológicas del aceite esencial de *O. vulgare* L. sobre las heridas, podrían estar relacionadas, al menos en parte, con la presencia de estos compuestos.

La Tabla 4 muestra los datos del análisis de varianza de una vía (one way ANOVA) aplicado a las fuerzas de resistencia a la tracción de las cicatrices de los grupos establecidos en el diseño experimental. Este análisis se realizó a un 95% de confianza ($p < 0.05$); obteniéndose un $p < 0.001$, lo que indicó que existe diferencia significativa entre todos los grupos. Este resultado también fue corroborado con el valor crítico para F, donde el teórico fue de 2.87 y el práctico de 35.28.

Tabla 4 Análisis de varianza de una vía (one-way ANOVA) entre las fuerzas de resistencia a la tracción de las cicatrices de los grupos establecidos en el diseño experimental

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados Libertad	Promedio cuadrados	F	P	Valor crítico para F
Entre grupos	291817.76	4	72954.44	35.28	<0.001	2.87
Dentro grupos	41353.20	20	2067.66			
Total	333170.96	24				

Fuente: elaboración propia

Los resultados del one way ANOVA señalaron que había diferencia significativa entre todos los grupos experimentales; por lo que, se realizó la prueba de Tukey (**Tabla 5**), para establecer exactamente que grupos muestran o no, diferencia estadísticamente significativa. Los resultados obtenidos establecen que no existe diferencia significativa entre el control positivo (Gel Cicatricure®) y el grupo experimental 1 (Gel con aceites esenciales de orégano al 1%). Del mismo modo, no existe diferencia significativa entre el grupo experimental 2 (Gel con aceites esenciales de orégano al 2%) y el grupo experimental 3 (Gel con aceites esenciales de orégano al 3%).

Tabla 5 Prueba de Tukey entre las fuerzas de resistencia a la tracción de las cicatrices de los grupos establecidos en el diseño experimental

Grupo	Cantidad	Promedio	Grupos homogéneos
Control negativo (excipientes)	5	301.20	X
Control positivo (Gel Cicatricure®)	5	425.20	X
Grupo experimental 1 (Gel AE orégano 1%)	5	398.00	X
Grupo experimental 2 (Gel AE orégano 2%)	5	561.20	X
Grupo experimental 3 (Gel AE orégano 3%)	5	594.00	X

Fuente: Elaboración propia

En la investigación realizada por Guevara y Rodríguez,⁸⁶ mostraron la comparación de una crema a base del extracto de *Caesalpinia spinosa* (Tara), llegando a la conclusión de que esta crema presentó un efecto cicatrizante estadísticamente similar al gel Cicatricure®. Asimismo, Gutiérrez y Ramírez (2015) reportaron un gel a base del extracto etanólico de *Paracalia jungioides* que demostró tener un mayor efecto cicatrizante comparándolo con el gel Cicatricure®.⁸⁷ En el presente estudio se observó que los geles con aceites esenciales de orégano al 2 y 3% presentaron un mayor efecto cicatrizante estadísticamente significativo en comparación al gel Cicatricure®. Debido a que con ambas concentraciones se obtiene un efecto cicatrizante similar, la concentración de elección para la preparación del gel sería al 2%.

Al analizar las diferentes bases de datos, no se ha encontrado un estudio científico que haya elaborado un gel a base de los aceites esenciales de *O.*

vulgare L. con el fin de evaluar su efecto cicatrizante. Sin embargo, existen investigaciones que han usado aceites esenciales para la elaboración de geles, como el caso de Hakim et al.⁸⁸ que prepararon un gel a base aceites esenciales de *Schinus molle*, evaluando su efecto cicatrizante.



CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron los aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L. mediante el método de hidrodestilación utilizando el aparato de Clevenger, con un rendimiento de 0.25 ± 0.03 %.
2. Los aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L. obtenidos presentaron como principales componentes al α -pineno (26.22%), cis- β -terpineol (18.77%) y acetato de linalilo (12.52%).
3. Los geles con aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. fueron preparados de forma satisfactoria, sus características fueron un color amarillento claro y homogéneo, consistencia semisólida y olor sui generis. Los geles con aceites esenciales de orégano al 2 y 3% presentaron un mayor efecto cicatrizante estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación a los otros grupos experimentales. Entre ambos grupos no hubo diferencia significativa, estableciendo que la concentración al 2% deber ser la utilizada.
4. Los geles con aceites esenciales de orégano al 2 y 3% mostraron un mayor efecto cicatrizante estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación con el gel comercial (gel Cicatricure®). El gel al 1% presentó un efecto cicatrizante estadísticamente similar ($p < 0.05$) a este gel comercial.

SUGERENCIAS

1. Evaluar otros modelos de experimentación para evaluar el efecto cicatrizante (modelo de herida por escisión, estudios histopatológicos, etc.) de los aceites esenciales de las hojas de *O. vulgare* L.
2. Realizar estudios de toxicidad a los aceites esenciales de las hojas de *O. vulgare* L.
3. Ejecutar un análisis de estabilidad acelerada y a largo plazo de los geles con aceites esenciales de las hojas de *O. vulgare* L.
4. Estudiar otros efectos farmacológicos (antibacteriano, antiparasitario, antifúngico, antioxidante, analgésico, antiinflamatorio, etc.) de los aceites esenciales de las hojas de *O. vulgare* L.

BIBLIOGRAFÍA

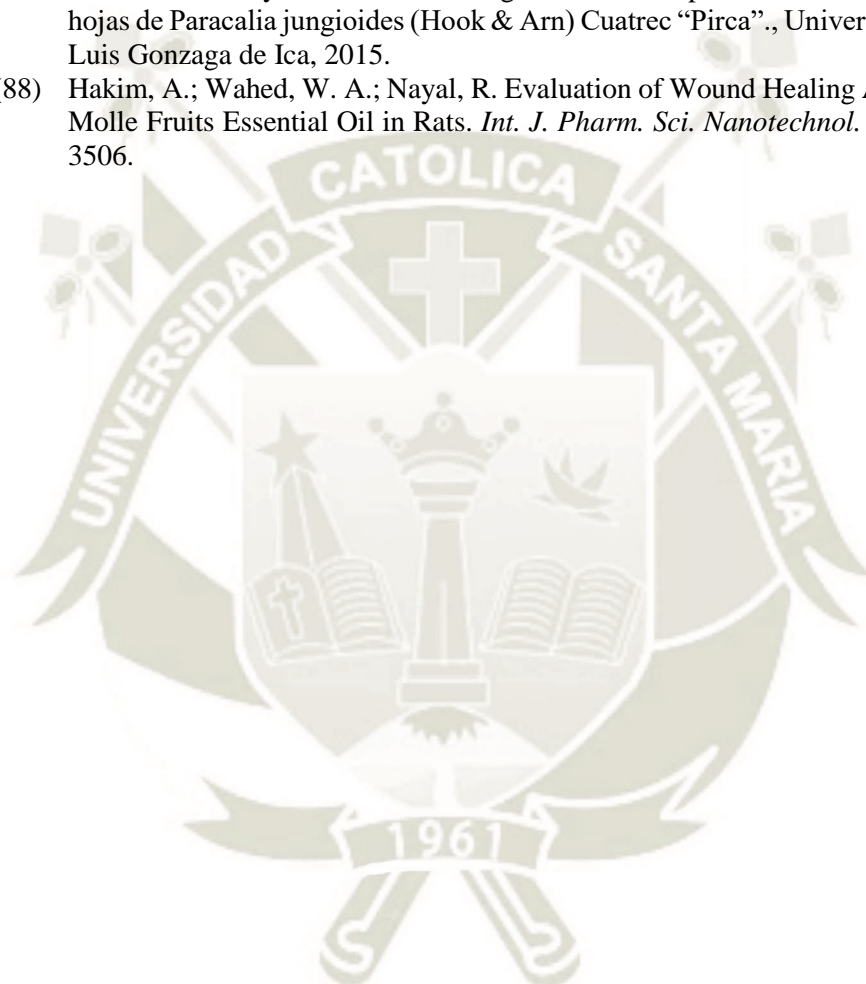
- (1) Kondo, T. Timing of skin wounds. *Leg. Med.* **2007**, *9* (2), 109–114.
- (2) Gebrehiwot, M.; Asres, K.; Bisrat, D.; Mazumder, A.; Lindemann, P.; Bucar, F. Evaluation of the wound healing property of *Commiphora guidottii* Chiov. ex. Guid. *BMC Complement. Altern. Med.* **2015**, *15* (1), 1–11.
- (3) Leach, M. A critical review of natural therapies in wound management. *Ostomy Wound Manag.* **2004**, *50* (2), 36–46.
- (4) Nagori, B. P.; Solanki, R. Role of Medicinal Plants in Wound Healing. *Research Journal of Medicinal Plant.* 2011, pp 392–405.
- (5) Alam, P.; Ansari, M. J.; Anwer, M. K.; Raish, M.; Kamal, Y. K. T.; Shakeel, F. Wound healing effects of nanoemulsion containing clove essential oil. *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.* **2017**, *45* (3), 591–597.
- (6) Han, X.; Parker, T. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochim. Open* **2017**, *4*, 73–77.
- (7) Institute for Quality and Efficiency in Health Care. How does skin work? <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0072439/> (accessed Jun 5, 2018).
- (8) Tejiram, S.; Kavalukas, S.; Shupp, J.; Barbul, A. Wound healing. In *Wound Healing Biomaterials*; Elsevier, 2016; pp 3–39.
- (9) Menche, N. *Biologie Anatomie Physiologie*; Elsevier: Munich, 2012.
- (10) Lee, S. H.; Jeong, S. K.; Ahn, S. K. An update of the defensive barrier function of skin. *Yonsei Med. J.* **2006**, *47* (3), 293–306.
- (11) Montagna, W.; Parakkal, P. The dermis. In *The structure and function of skin*; Elsevier, 2012; pp 96–141.
- (12) Velnar, T.; Bailey, T.; Smrkolj, V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *J. Int. Med. Res.* **2009**, *37* (5), 1528–1542.
- (13) Robson, M. Wound healing: biologic features and approaches to maximum healing trajectories. *Curr. Probl. Surg.* **2001**, *38* (2), 72–141.
- (14) García González, R. F.; Gago Fornells, M.; Chumilla López, S.; Gaztelu Valdés, V. Abordaje de enfermería en heridas de urgencias. *Gerokomos* **2013**, *24* (3), 133–139.
- (15) Grey, J.; Enoch, S.; Harding, K. Wound assessment. *Plast. Surg. Nurs.* **2009**, *29* (2), 128–130.
- (16) Salem Z., C.; Pérez P., J. A.; Henning L., E.; Uherek P., F.; Schultz O., C.; Butte B., J. M.; González F., P. Heridas: Conceptos generales. *Cuad. Cirugía* **2000**, *14* (1), 90–99.
- (17) Ramírez-Hernández, G. Fisiología de la cicatrización cutánea. *Rev. Fac. Salud* **2010**, *2* (2), 69–78.
- (18) De Oliveira-Gonzalez, A.; Araujo-Andrade, Z.; Costa, T.; Alves-Peixoto, A. Wound healing - A literature review. *An. Bras. Dermatol.* **2016**, *91* (5), 614–620.
- (19) Guarín-Corredor, C.; Quiroga-santamaría, P.; Landínez-Parra, N. Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. *Rev. Fac. Med.* **2013**, *61* (4), 441–448.
- (20) Zavala, A. G.; Benzaquen, R. C.; Malavé, E. Z.; Sáenz, A. M.; Calebotta, A.; Rivero, A. L. Cicatrización de las heridas. *Dermatol Venez* **2009**, *47* (3), 8–12.
- (21) Gurtner, G. C.; Werner, S.; Barrandon, Y.; Longaker, M. T. Wound repair and regeneration. *Nature* **2008**, *453* (7193), 314–321.
- (22) Rudolph, R.; Van de Berg, J.; Ehrlich, P. Wound contraction and scar contracture. In *Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects*; Wiley: Florida, 1992; pp 45–98.
- (23) Maynard, J. How Wounds Heal: The 4 Main Phases of Wound Healing <http://www.shieldhealthcare.com> (accessed Jun 11, 2018).
- (24) Singer, A.; Dagum, A. Current management of acute cutaneous wounds. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *359* (10), 1037–1046.

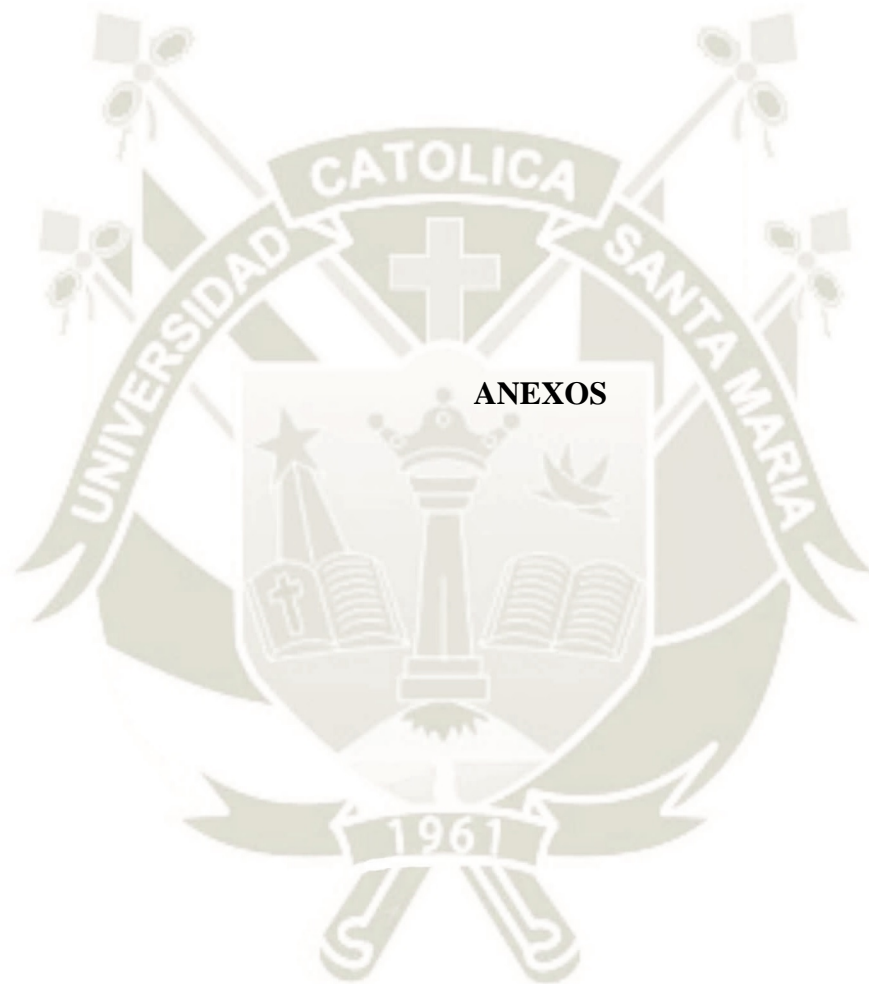
- (25) Enoch, S.; Grey, J. E.; Harding, K. G. Non-surgical and drug treatments. *Bmj* **2006**, 332 (7546), 900–903.
- (26) Esteva, E. Tratamiento de heridas. *Offarm* **2006**, 25, 54–60.
- (27) Divins, M. Cicatrizantes y protectores dermatológicos. *Farm. Prof.* **2010**, 24 (4), 36–39.
- (28) Davidson, J. R. Current Concepts in Wound Management and Wound Healing Products. *Vet. Clin. North Am.* **2015**, 45 (3), 537–564.
- (29) Budovsky, A.; Yarmolinsky, L.; Ben-Shabat, S. Effect of medicinal plants on wound healing. *Wound Repair Regen.* **2015**, 23 (2), 171–183.
- (30) Villegas, L.; Fernández, I.; Maldonado, H.; Torres, R.; Zavaleta, A.; Vaisberg, A.; Hammond, G. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. *J. Ethnopharmacol.* **1997**, 55 (3), 193–200.
- (31) Woollard, A. C.; Tatham, K. C.; Barker, S. The influence of essential oils on the process of wound healing: a review of the current evidence. *J. Wound Care* **2007**, 16 (6), 255–257.
- (32) Dorsett-Martin, W. a.; Wysocki, A. B. Rat Models of Skin Wound Healing. *Sourceb. Model. Biomed. Res.* **2008**, 12 (6), 631–638.
- (33) Pardo, V.; Alexandra, D. Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de *Dracontium croatii*, Universidad Nacional de Colombia, 2009.
- (34) D'Acampora, A. J.; Vieira, D. S. C.; Silva, M. T.; Farias, D. C. De; Tramonte, R. Morphological analysis of three wound-cleaning processes on potentially contaminated wounds in rats.
- (35) ITIS. *Origanum vulgare* L. www.itis.gov (accessed Jul 2, 2018).
- (36) Goetz, P.; Ghedira, K. *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae): *origan commun*. In *Phytothérapie anti-infectieuse*; Springer: Paris, 2012; pp 327–332.
- (37) Kintzios, S. E. *Oregano*. In *Handbook of Herbs and Spices*; Woodhead Publishing Limited, 2012; Vol. 2, pp 417–436.
- (38) Bâtarde, M. *Origanum vulgare* L. <https://fleursauvageyonne.github.io> (accessed Jul 3, 2018).
- (39) Agrodata Perú. Tacna, primer productor de oregano del Perú <http://agrieologicoperuvia.galeon.com/> (accessed Jul 4, 2018).
- (40) Veres, K.; Varga, E.; Dobos, A.; Hajdu, Z.; Mathe, I.; Nemeth, E.; Szabo, K. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letsvaart. *Chromatographia* **2003**, 57 (1), 95–98.
- (41) Sahin, F.; Güllüce, M.; Daferera, D.; Sökmen, A.; Sökmen, M.; Polissiou, M.; Agar, G.; Özer, H. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control.* 2004, pp 549–557.
- (42) Mehdizadeh, L.; Moghaddam, M. Essential Oils: Biological Activity and Therapeutic Potential. In *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*; Elsevier Inc., 2018; pp 167–179.
- (43) Zuzarte, M.; Salgueiro, L. Essential Oils Chemistry. In *Bioactive Essential Oils and Cancer*; Springer: Coimbra, 2015; pp 1–292.
- (44) Asbahani, A. El; Miladi, K.; Badri, W.; Sala, M.; Addi, E. H. A.; Casabianca, H.; Mousadik, A. El; Hartmann, D.; Jilale, A.; Renaud, F. N. R.; et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *Int. J. Pharm.* **2015**, 483 (2), 220–243.
- (45) Ríos, J. L. Essential oils: What they are and how the terms are used and defined. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*; Elsevier, 2016; pp 3–10.
- (46) Pingret, D.; Fabiano-Tixier, A. S.; Chemat, F. An Improved Ultrasound Clevenger for Extraction of Essential Oils. *Food Anal. Methods* **2014**, 7 (1), 9–12.
- (47) Vinatoru, M.; Mason, T. J.; Calinescu, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials.

- Trends Anal. Chem.* **2017**, 97, 159–178.
- (48) Kuklinski, C. Aceites esenciales. In *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*; Omega, 2000.
- (49) Amadio, C.; Miralles, S.; Medina, R.; Dediol, C.; Zimmermann, M. Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. *Rev. la Fac. Ciencias Agrar. Uncuyo* **2011**, 43 (1), 237–245.
- (50) Marriott, P. J.; Shellie, R.; Cornwell, C. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *J. Chromatogr. A* **2001**, 936 (1–2), 1–22.
- (51) Dantas, M.; Reis, S.; Damasceno, C.; Rolim, L.; Rolim-Neto, P.; Carvalho, F.; Quintans-Junior, L.; Da Silva Almeida, J. Development and Evaluation of Stability of a Gel Formulation Containing the Monoterpene Borneol. *Sci. World J.* **2016**, 20, 10–13.
- (52) Kokane, D. D.; More, R. Y.; Kale, M. B.; Nehete, M. N.; Mehendale, P. C.; Gadgoli, C. H. Evaluation of wound healing activity of root of *Mimosa pudica*. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, 124 (2), 311–315.
- (53) Chauhan, R. S.; Vashistha, R. K.; Nautiyal, M. C.; Tava, A.; Cecotti, R. Essential oil composition of hypericum perforatum L. From Cultivated Source. *J. Essent. Oil Res.* **2011**, 23 (3), 20–25.
- (54) Hossain, M. A.; Al-Hashmi, R. A.; Weli, A. M.; Al-Riyami, Q.; Al-Sabahib, J. N. Constituents of the essential oil from different brands of *Syzygium caryophyllatum* L by gas chromatography-mass spectrometry. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2012**, 2 (3), 1446–1449.
- (55) Béjaoui, A.; Chaabane, H.; Jemli, M.; Boulila, A.; Boussaid, M. Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Origanum vulgare* subsp. glandulosum Desf. at Different Phenological Stages. *J. Med. Food* **2013**, 16 (12), 1115–1120.
- (56) Asensio, C. M.; Grosso, N. R.; Juliani, H. R. Quality characters, chemical composition and biological activities of oregano (*Origanum* spp.) Essential oils from Central and Southern Argentina. *Ind. Crops Prod.* **2015**, 63, 203–213.
- (57) Tellez-Monzón, L.; Nolazco-Cama, D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna. *Univ. Nac. Agrar. La Molina* **2017**, 35, 195–205.
- (58) Porter, N. G.; Lammerink, J. P. Effect of temperature on the relative densities of essential oils and water. *J. Essent. Oil Res.* **1994**, 6 (3), 269–277.
- (59) Turek, C.; Stintzing, F. C. Stability of essential oils: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2013**, 12 (1), 40–53.
- (60) Stauffer, E.; Dolan, J. A.; Newman, R. Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. In *Fire Debris Analysis*; Elsevier, 2008; pp 235–293.
- (61) Gong, H.; Liu, W.; LV, G.; Zhou, X. Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan. *Brazilian J. Pharmacogn.* **2014**, 24 (1), 25–32.
- (62) Rohloff, J. Analysis of phenolic and cyclic compounds in plants using derivatization techniques in combination with GC-MS-based metabolite profiling. *Molecules* **2015**, 20 (2), 3431–3462.
- (63) Loza-Tavera, H. Monoterpenes in Essential Oils. In *Chemicals via higher plant bioengineering*; Springer: New York, 1999; pp 49–62.
- (64) The National Institute of Standards and Technology. NIST Chemistry WebBook www.nist.gov (accessed Jul 23, 2018).
- (65) Ozdemir, N.; Ozgen, Y.; Kiralan, M.; Bayrak, A.; Arslan, N.; Ramadan, M. F. Effect of different drying methods on the essential oil yield, composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* L. and *Origanum onites* L. *J. Food Meas. Charact.* **2017**, 12 (2), 820–825.
- (66) Kilic, Ö.; Özdemir, F. A. Variability of Essential Oil Composition of *Origanum vulgare* L. subsp. gracile Populations from Turkey. *J. Essent. Oil Bear. Plants* **2016**, 19 (8), 2083–2090.

- (67) Teixeira, B.; Marques, A.; Ramos, C.; Serrano, C.; Matos, O.; Neng, N. R.; Nogueira, J. M. F.; Saraiva, J. A.; Nunes, M. L. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *J. Sci. Food Agric.* **2013**, *93* (11), 2707–2714.
- (68) Medina, F.; Bautista, L. Essential oils prepared in Nano-emulsion form for the formulation of cosmetic products. *Rev. Colomb. Investig. Agroindustriales* **2015**, *2*, 6–15.
- (69) Kulkarni, V. S.; Shaw, C.; Kulkarni, V. S.; Shaw, C. Formulating Creams, Gels, Lotions, and Suspensions. In *Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages*; 2016; pp 29–41.
- (70) Lambers, H.; Piessens, S.; Bloem, A.; Pronk, H.; Finkel, P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2006**, *28* (5), 359–370.
- (71) Petersen, H.; Tavakoli, F.; Kruber, S.; Münscher, A.; Gliese, A.; Hansen, N. O.; Uschold, S.; Eggert, D.; Robertson, W. D.; Gosau, T.; et al. Comparative study of wound healing in rat skin following incision with a novel picosecond infrared laser (PIRL) and different surgical modalities. *Lasers Surg. Med.* **2016**, *48* (4), 385–391.
- (72) Nagar, H. K.; Srivastava, A. K.; Srivastava, R.; Kurmi, M. L.; Chandel, H. S.; Ranawat, M. S. Pharmacological Investigation of the Wound Healing Activity of *Cestrum nocturnum* (L.) Ointment in Wistar Albino Rats. *J. Pharm.* **2016**, *16*, 1–8.
- (73) Dorsett-Martin, W. a.; Wysocki, A. B. Rat Models of Skin Wound Healing. In *Sourcebook of Models for Biomedical Research*; Humana Press Inc.: New Jersey, 2008; pp 631–638.
- (74) Nayak, B. S.; Pinto Pereira, L. M. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complement. Altern. Med.* **2006**, *6*, 1–6.
- (75) Dwivedi, D.; Dwivedi, M.; Malviya, S.; Singh, V. Evaluation of wound healing, anti-microbial and antioxidant potential of *Pongamia pinnata* in wistar rats. *J. Tradit. Complement. Med.* **2017**, *7* (1), 79–85.
- (76) Kullander, S.; Olsson, A. On the tensile strength of healing cutaneous wounds in pregnant rats. *Acta Endocrinol. (Copenh)*. **1962**, *41* (2), 314–320.
- (77) Murthy, S.; Gautam, M. K.; Goel, S.; Purohit, V.; Sharma, H.; Goel, R. K. Evaluation of In Vivo Wound Healing Activity of *Bacopa monniera* on Different Wound Model in Rats. *Biomed Res. Int.* **2013**, 1–9.
- (78) Lusby, P. E.; Coombes, A. L.; Wilkinson, J. M. A comparison of wound healing following treatment with *Lavandula xallardii* honey or essential oil. *Phyther. Res.* **2006**, *20* (9), 755–757.
- (79) Enoch, S.; Leaper, D. J. Basic science of wound healing. *Surg.* **2005**, *23* (2), 37–42.
- (80) Singh, M.; Govindarajan, R.; Nath, V.; Rawat, A. K. S.; Mehrotra, S. Antimicrobial, wound healing and antioxidant activity of *Plagiochasma appendiculatum* Lehm. et Lind. *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *107* (1), 67–72.
- (81) Jorge, M.; Madjarof, C.; Ruiz, A.; Fernandes, A.; Rodrigues, R.; de Oliveira, I.; Foglio, M. A.; de Carvalho, J. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *118* (3), 361–366.
- (82) Alizadeh, A. M.; Sohanaki, H.; Khaniki, M.; Mohaghheghi, M. A.; Ghmami, G.; Mosavi, M. The effect of *teucrium polium* honey on the wound healing and tensile strength in rat. *Iran. J. Basic Med. Sci.* **2011**, *14* (6), 499–505.
- (83) Han, X.; Parker, T. L. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochim. Open* **2017**, *4*, 73–77.
- (84) Memariani, Z.; Sharifzadeh, M.; Bozorgi, M.; Hajimahmoodi, M.; Farzaei, M. H.; Gholami, M.; Siavoshi, F.; Saniee, P. Protective effect of essential oil of *Pistacia atlantica* Desf. on peptic ulcer: role of α -pinene. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2017, pp 57–63.

- (85) Riella, K. R.; Marinho, R. R.; Santos, J. S.; Pereira-Filho, R. N.; Cardoso, J. C.; Albuquerque-Junior, R. L. C.; Thomazzi, S. M. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *143* (2), 656–663.
- (86) Guevara Sánchez, R.; Rodríguez Vera, J. Efecto cicatrizante de la fitocrema a base del extracto seco de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” en *Rattus rattus* var. *albinus* con heridas inducidas., Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, 2013.
- (87) Gutiérrez Hernández, O.; amírez Palomino, M. Evaluación de la actividad antiinflamatoria y cicatrizante de un gel elaborado a partir del extracto etanólico de las hojas de *Paracalia jungioides* (Hook & Arn) Cuatrec “Pirca”.., Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, 2015.
- (88) Hakim, A.; Wahed, W. A.; Nayal, R. Evaluation of Wound Healing Activity of *Schinus Molle* Fruits Essential Oil in Rats. *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol.* **2016**, *9* (5), 3502–3506.





Anexo 1

Certificado de identificación de la *O. vulgare* L.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA



CONSTANCIA 023-2018-HUSA

El Director del Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

HACE CONSTAR:

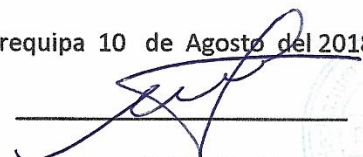
Que las muestras frescas de raíces, tallos, hojas y flores de la planta traída al laboratorio para el análisis botánico corresponde a la especie *Origanum vulgare* L. de la familia *Lamiaceae* de nombre común "orégano". Dichas muestras fueron obtenidas de la localidad de Huambo. Provincia de Caylloma. Departamento de Arequipa. Para la ejecución de la Tesis: Evaluación del efecto cicatrizante del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* "orégano" sobre heridas experimentales en ratas Wistar Albino" por Erick Alexander Pinto López y Lizet Garcia Castillo de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María:

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
ORDEN: LAMIALES
FAMILIA: LAMIACEAE
GENERO: *Origanum* L.
ESPECIE: *Origanum vulgare* L.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 10 de Agosto del 2018



Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR

Herbarium Arequipense (HUSA)



Anexo 2

Datos obtenidos en la evaluación del efecto cicatrizante de los aceites esenciales de *Origanum vulgare*

	Grupos Experimentales (Fuerza de resistencia a la tracción de la heridas (g))				
	Control (-)	Gel con AE orégano 1%	Gel con AE orégano 2%	Gel con AE orégano 3%	Control (+)
1	218.00	363.00	537.00	549.00	326.00
2	361.00	382.00	602.00	643.00	491.00
3	317.00	405.00	549.00	611.00	455.00
4	315.00	449.00	517.00	595.00	429.00
5	295.00	392.00	601.00	572.00	425.00
Promedio	301.20	398.20	561.20	594.00	425.20
Desviación estándar	52.39	32.28	38.53	36.06	61.39
SEM	23.43	14.43	17.23	16.13	27.45