

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS PECUARIAS



**EFFECTO DEL PROPÓLEO EN LA REPARACIÓN DE HERIDAS
CUTANEAS INDUCIDAS EN CUYES (*Cavia porcellus* L.)**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

MARCOS PATRICIO LINDA YSAURA

PROMOCIÓN 2009 - II

Tingo María - Perú

2011

L73

M26

Marcos Patricio, Linda Ysaura

Efecto del propóleo en la reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes (*Cavia porcellus L.*)

63 páginas; 02 cuadros; 20 fgs.; 53 ref.; 30 cm.

Tesis (Ing. Zootecnista) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Zootecnia - 2011

1. PROPOLEO

2. REPARACION

3. TRATAMIENTO

4. REGENERACION

5. SANIDAD

6. EVALUACION



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE ZOOTECNIA

Av. Universitaria Km. 2 Teléfono: (062) 561280
TINGO MARÍA

"Año de la Integración Nacional y Reconocimiento de Nuestra Diversidad"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 06 de enero de 2012, a horas 9:15 a.m. para calificar la tesis titulada:

EFFECTO DEL PROPOLEO EN LA REPARACION DE HERIDAS CUTÁNEAS INDUCIDAS EN CUYES (*Cavia Porcellus* L.)

Presentada por la bachiller **Linda Ysaura MARCOS PATRICIO**; después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobada con el calificativo de **"EXCELENTE"**.

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el **TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Artículo 95, inciso "i" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 06 de enero de 2012

M.Sc. TEODOLFO VALENCIA CHAMBA
Presidente



(Ausente)

Méd. Vet. LISANDRO TAFUR ZEVALLOS
Miembro

Ing. WALTER PAREDES ORELLANA
Miembro

Dr DANIEL PAREDES LOPEZ
Miembro - Asesor

DEDICATORIA

A Dios

Por ser mi luz, mi camino, mi guía,
por darme el espíritu de vida y
adopción, de esta manera
permitirme lograr una de mis metas
trazadas.

A mi querida madre Celestina
PATRICIO RAMOS por su apoyo y
confianza y a mis hermanos por su
apoyo moral.

A mi padre Teófilo MARCOS
BENIGNO Q.P.D, a quien llevo en mi
corazón. Descansa en paz.

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento para:

- La facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por albergarme en sus aulas y permitir culminar mis estudios.
- La granja zootécnica de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- El Ing. Walter Alberto Paredes Orellana por acogerme en su casa, por su desmesurada preocupación en mi bienestar y equilibrio tanto profesional como emocional como si fuera mi "padre adoptivo", por enseñarme y ser perseverante y a siempre exigirme más, excelente profesional y persona a quien admiro.
- La familia Peláez Quispe por su hospitalidad y afecto son personas con un tremendo corazón.
- El Ing. Juan Lao Gonzales, quien en su mandato de decano me brindó su apoyo desinteresado para seguir con la carrera.
- El Med. Vet. Lisandro Tafur Zevallos y al M.Sc. Teodolfo Valencia Chamba por brindarme su asesoría y oportunas correcciones
- Mi asesor Dr. Daniel Paredes Lopez por guiarme siempre en el trabajo de campo y laboratorio durante la ejecución de la tesis.

- Roy Erick Vela Garro, por su amor, comprensión y apoyo.

- El técnico Félix Jara, por su apoyo desinteresado del laboratorio de sanidad animal de la facultad de zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por brindarme sus instalaciones y equipos colaborando en el procesamiento de las muestras de tejidos.

- Mis amigos Yrsa, Sarita, Rita, Dennise, Diego, Frits, Iliana, Sr. José, Carlita, Nancy por todos los momentos compartidos.

- Todos quienes me ayudaron en la trayectoria de mi formación como profesional les estoy eternamente agradecida por todo cuanto hicieron “muchas gracias”.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Definición del propóleo.....	4
2.1.1. Composición química del propóleo.....	4
2.1.2. Propiedades del propóleo.....	6
2.1.3. Actividad antibacteriana del propóleo.....	9
2.2. Evidencias científicas de la composición química del propóleo (costa, sierra y selva).....	14
2.3. Lesiones cutáneas.....	15
2.3.1. Agentes infecciosos.....	16
2.3.2. Agentes físicos.....	16
2.3.3. Agentes químicos.....	16
2.4. Reparación y regeneración de las lesiones cutáneas.....	17
2.4.1. Reparación de las lesiones cutáneas.....	17
2.4.2. Regeneración de las lesiones cutáneas.....	17

2.4.3.	Cicatrización de las lesiones cutáneas.....	17
2.5.	Definición de inflamación en heridas cutáneas.....	18
2.6.	Definición de queloides.....	19
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1.	Lugar y fecha de ejecución	21
3.2.	Tipo de investigación	21
3.3.	Población y muestra.....	22
3.4.	Animales experimentales	22
3.5.	Instalaciones y equipos	22
3.6.	Alimentación.....	22
3.7.	Sanidad	23
3.8.	Propóleo.....	23
3.9.	Obtención del extracto etanólico de propóleo	23
3.10.	Preparación de las concentraciones de propóleo	24
3.11.	Inducción de la herida y administración del producto.....	25
3.12.	Medición de la longitud mediante el método planimétrico.....	26
3.13.	Evaluación histológica del grado de reparación	26

3.13.1. Inclusión	27
3.13.2. Realización de los tacos	27
3.13.3. Corte	28
3.13.4. Procedimiento de coloración (Hematoxilina – eosina).....	28
3.14. Evaluación macroscópica de la longitud del grado de reparación	30
3.15. Variable independiente	30
3.16. Tratamientos	31
3.17. Croquis de distribución de los tratamientos.....	31
3.18. Diseño estadístico.....	31
3.19. Variable dependiente:	32
IV. RESULTADOS	33
4.1. Evaluación del efecto de propóleo en la reparación de heridas cutáneas.....	33
4.2. Descripción microscópica del estudio histológico	36
V. DISCUSIÓN.....	48
5.1. Longitud de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes.....	48

5.2. Evaluación del grado de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes.....	49
5.3. Forma de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes.....	50
VI. CONCLUSIONES.....	53
VII. RECOMENDACIONES.....	54
VIII. ABSTRACT.....	55
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Evolución de la longitud de reparación en (mm) de heridas cutáneas, en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo.....	33
2. Evolución del grado de avance en heridas cutáneas en (mm) en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo.....	35
3. Evolución de la longitud de reparación en (mm) de heridas cutáneas, en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo.....	67
4. Evolución del grado de avance en heridas cutáneas en (mm) en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Evaluación de los días para los cortes histológicos.	25
2. Grado de reparación de la herida cutánea.	30
3. Evolución de la reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes tratados con pomada a base de propóleo.	34
4. Evolución de la longitud del grado de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes tratados con pomada a base de propóleo.	36
5. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 3 días.	37
6. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 7 días.	37
7. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 11 días.	38
8. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 15 días.	39
9. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 3 días.	39

10.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 7 días.	40
11.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 11 días.	41
12.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 15 días.	41
13.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 3 días.	42
14.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 7 días.	43
15.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 11 días.	44
16.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 15 días.	44
17.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por periodo de 3 días.....	45
18.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por período de 7 días.	46
19.	Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por período de 11 días.	47

20. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por período de 15 días.	47
21. Imágenes tomadas durante el corte del trabajo de investigación.	68

RESUMEN

El presente estudio se realizó en el laboratorio de sanidad animal y en el bioterio de la granja zootécnica, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva – Tingo María, departamento de Huánuco – Perú. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de una pomada a base de propóleo en diferentes concentraciones sobre la longitud, tiempo y forma histológica de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes (*Cavia porcellus*). Para ello se utilizaron 16 cuyes de raza Perú de tres meses de edad distribuidos en cuatro tratamientos: 0% (T0) 10% (T1), 30% (T2), 50% (T3) de propóleo y cuatro repeticiones, con un diseño completamente al azar (DCA). A todos los animales se indujo un corte de 130 mm de diámetro en la parte dorsal en el día 0 y la pomada se aplicó mediante hisopado en intervalos de 24 horas hasta finalizar el proceso de reparación. Las mediciones de la longitud de reparación de las heridas mediante el método planimétrico y la toma de biopsias de tejido se realizaron en los días 0, 3, 7, 11 y 15 días después de la incisión. Los tejidos se fijaron en solución de formol al 10%, procesados y coloreados con hematoxilina y eosina. Los resultados fueron evaluados por el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P > 0.01$). La longitud de reparación cutánea en el T3 fue superior a los demás tratamientos ($P > 0.01$) a partir del tercer día. El T3 al treceavo día mostró un grado de reparación por completo en comparación al T1 y T2 en los cuales la reparación total se obtuvo a los 15 días. Tal información permite concluir que el propóleo estimuló la neoformación vascular y fibroblástica, induciendo a la formación epitelial. La

longitud y tiempo de reparación de las heridas inducidas mejoraron a medida que se incrementó el contenido de propóleo en la pomada usada y en la forma histológica de reparación predominó la regeneración epitelial.

Palabras Claves: Propóleo, reparación de heridas, regeneración tisular.

I. INTRODUCCIÓN

El propóleo es una sustancia resinosa recolectada de los árboles y arbustos silvestres de color café a verde oscuro, de consistencia viscosa a dura. Es recogido por las abejas *Apis mellifera* de diversas partes de la planta (retoños, botones florales y exudados resinosos), siendo transportado al interior de la colmena y modificado por medio de la incorporación de secreciones propias. El propóleo, ejerce un efecto extremadamente favorable sobre la inflamación y supuración en la estomatitis. Usado para el bienestar de la salud en el tratamiento de diversas enfermedades, heridas en las personas y animales, se ha demostrado que es más efectivo que algunos medicamentos convencionales sobre diversos microorganismos patógenos.

Los cuyes machos después del nacimiento, llegan a un período donde pueden diferenciar su etapa reproductiva, la cual lo representan con comportamientos de agresividad entre ellos, esto ocasiona lesiones en los individuos que tienen menor peso. Las lesiones ocasionadas de acuerdo a su magnitud se retardan en la reparación, mermando el ritmo de ganancia de peso; como problemática se plantea que ¿De qué manera la aplicación de la pomada en base a la concentración de propóleo, disminuirá el tiempo de reparación en lesiones cutáneas de cuyes?.

Los pobladores recurrieron a prácticas ancestrales de selección manejo y conservación de conocimientos acumulados que han transmitido de una generación a otra, una de las patologías cutáneas más conocidas en nuestra amazonia son las lesiones cutáneas, afectando a los seres humanos, animales domésticos y animales silvestres.

En base a estos reportes existe la alternativa de usar una pomada que contenga el propóleo como factor reparador de lesiones cutáneas (medicinal), teniendo como característica un menor tiempo en reparación; se distingue por poseer propiedades curativas en heridas cutáneas en humanos y animales por lo que al determinar la evidencia científica de sus propiedades medicinales, surgirán como una alternativa de usar cortes. Por ello se plantea la siguiente hipótesis: La mayor concentración de propóleo en la pomada responde efectivamente en la reparación de heridas cutáneas en cuyes.

Objetivo general

- Evaluar el efecto de la pomada a base de propóleo en la reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes.

Objetivo específico

- Determinar macroscópicamente la longitud de reparación, de heridas cutáneas en cuyes tratados con pomada a base de propóleo.

- Comparar la longitud de reparación de las heridas cutáneas en cuyes tratados con pomada a base de propóleo a diferentes concentraciones.
- Determinar microscópicamente el grado y forma de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Definición del propóleo

ALVAREZ (2000) define al propóleo como una mezcla compleja de resinas, ceras, aceites esenciales, polen y microelementos, de consistencia viscosas y de color verde, pardo, castaño, rojizo e incluso puede ser casi negro, dependiendo de su origen botánico. Esta sustancia, elaborada por las abejas, es conocida por el hombre desde tiempos remotos. La utilizaban los sacerdotes egipcios y más tarde, los griegos, quienes lo denominaron "propóleos", *pro*: que significa delante de y *polis*, que quiere decir ciudad.

2.1.1. Composición química del propóleo

La composición varía según el origen vegetal, aunque están presentes numerosas sustancias de modo constante y relativamente estables y que condicionan sus propiedades físico y biológicas, lo que abre perspectivas para analizar y caracterizar este producto, generalmente está constituido por: resina y bálsamo 50 %, cera 40 %, polen 5 %, sustancias minerales, oligoelementos, vitaminas en pequeñas proporciones 5%, aceite etéreos 10% (CIZMARIX y MATEL, 1970).

El tipo de composición química del propóleo dependerá de la región en la cual fue producido, de esta forma sus componentes no presentan homogeneidad, a no ser que sea obtenido siempre de la misma región. En general, puede decirse que el propóleo está compuesto de 50 – 55 % de cera de miel, 8 – 10 % de aceites esenciales y 5 % de polen. También, es encontrada una pequeña cantidad de ácidos grasos, ácidos orgánicos, aminoácidos, vitaminas y minerales (PARK y MAGRO, 1991; MAGRO, 1998).

Se piensa que los efectos benéficos del propóleo son debido al compuesto fenólico llamado flavonoide, presente en su composición y que varía de acuerdo con el origen del producto (PARK y MAGRO, 1991; KOO y ROSALEN, 1999).

Además el propóleo posee minerales tales como lo menciona SISA (1996): Aluminio, plata, bario, boro, cromo, cobalto, estaño, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, níquel, plomo, selenio, silicio, estroncio, titanio, vanadio, zinc.

2.1.1.1. Los flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. En un principio, fueron consideradas sustancias sin acción beneficiosa para la salud humana, pero más tarde se demostraron múltiples efectos positivos debido a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres. Aunque diversos estudios indican que algunos flavonoides poseen acciones prooxidantes, éstas se producen sólo a dosis

altas, constatándose en la mayor parte de las investigaciones la existencia de efectos antiinflamatorios, antivirales o antialérgicos, y su papel protector frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías (BLOOD *et al.*, 1986).

2.1.1.2. Ácidos fenólicos

Los fenoles son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido a al menos un grupo funcional hidroxilo. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo (BLOOD *et al.*, 1986).

2.1.2. Propiedades del propóleo

Según ALVAREZ (2000), científicamente se le ha demostrado diferentes propiedades así como su efecto antibacteriano, antimicótico, antioleostorelémico, antiviral, analgésico, antioxidante, citostático, fotoinhibidor, hemostático, entre otros.

MENEZES (2005) menciona que la farmacodinamia ha sido revisada recientemente destacando propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes y antineoplásicas. No obstante, muchas de estas cualidades aun requieren de una verificación adicional (NAKAJIMA *et al.*, 2007; PAULINO *et al.*, 2003; NAGAI *et al.*, 2001 y NATARAJAN *et al.*, 1996).

STREHL *et al.* (1994) vieron que el propóleo ganó espacios importantes en el tratamiento de heridas, por su capacidad antibacteriana y por su notable capacidad cicatrizante y antiinflamatoria. Esto último es comparable a la de antiinflamatorios de síntesis como el diclofenac. Se señaló al ácido cafeico como responsable de inhibir la dihidrofolato reductasa, reduciendo la producción de interleuquinas y prostaglandinas.

OZTURK (2000) refirió que en trabajos realizados en el Departamento de Oftalmología de la Facultad de Medicina, Universidad de Celal Bayar en Turquía, empleando un modelo animal, la quemadura de córnea, concluyeron que el propóleo tiene un efecto antiinflamatorio comparable a la dexametasona ($p > 0.05$).

CERCI (2000) empleó el propóleo en medicina para tratar heridas con superiores resultados a los obtenidos con "cicatrizantes" de origen sintético. Desde 1985 empleamos el propóleo para tratar pacientes con heridas de diferente naturaleza (quemaduras, politraumatizados, pie diabético, etc.). Los pacientes concurren al hospital con heridas infectadas o impétigos estafilocócicos o estreptocócicos tratamos sus heridas con apósitos de propóleos al 2% e indicamos un antibiótico orientado por el estudio microbiológico o la clínica. Los resultados son claramente favorables, si comparamos con la evolución que tienen los pacientes tratados con otras medidas y ATB.

MARCUCCI (2000) indica que al propóleo, se emplea con buenos resultados en amigdalitis y faringitis. Los profesionales de la voz son grandes consumidores de miel con propóleos, caramelos o jarabe. Pero este producto brinda resultados ventajosos en infecciones respiratorias altas en forma de colutorios o inhalaciones, solo o asociado a antibióticos.

EI MINISTERIO DE AGRICULTURA DE BRASIL (1999) demuestra que trabajos realizados con propóleo estimula la inmunidad inespecífica y la específica, tanto inmunidad celular (linfocitos T) como la humoral (linfocitos B). En ratones infectados con el virus influenza tipo A y tratados con propóleo, se constató un aumento de los linfocitos T, un mayor nivel de fagocitosis y una menor mortalidad, en comparación con animales testigo no tratados. Los autores determinaron que se estimula la liberación del factor inhibidor de la migración de los leucocitos.

El propóleo ganó espacios importantes en el tratamiento de heridas, por su capacidad antibacteriana y por su notable capacidad cicatrizante y antiinflamatoria. Esto último es comparable a la de antiinflamatorios de síntesis como el diclofenac. Se señaló al ácido cafeico como responsable de inhibir la dihidrofolato reductasa, reduciendo la producción de interleuquinas y prostaglandinas de la misma forma, las propiedades antimicóticas de propóleo, incluyendo la actividad sobre varias especies de *Candida* y de *Trichosporon*, que se han estudiado previamente (UNIVERSIDAD DE OXFORD, 1996 y OLIVEIRA, 2006).

La estomatitis aftosa se considera como la más frecuente de las lesiones de la mucosa bucal y alrededor del 20% de la población, aunque en algunos estudios se han reportado cifras de hasta el 60%. Se realiza este estudio con el objetivo de evaluar la efectividad de la tintura de propóleo al 5% en el tratamiento de la estomatitis aftosa. Se realizó un ensayo clínico, formando dos grupos de pacientes de ambos sexos entre los 12 y 44 años de edad con diagnóstico clínico de estomatitis aftosa. Al grupo estudio se aplica el propóleo al 5% y al grupo control un tratamiento convencional, se obtuvieron resultados altamente satisfactorios, que corroboran la efectividad de la aplicación de la tintura de propóleo al 5% (BELLON y CALZADILLA, 2007).

Se sabe que el propóleo posee características antisépticas, cicatrizantes y anestésicas, razón por la cual es ampliamente utilizado por la población, principalmente para el tratamiento de heridas cutáneas. Considerando lo expuesto anteriormente se propuso estudiar histológicamente la acción de la solución de extracto alcohólico de propóleo en heridas creadas en el dorso de ratones, adonde quedo expuesto el tejido conectivo. Los resultados mostraron que el propóleo no provoca una reacción inflamatoria en el tejido conectivo, promoviendo neo-formación vascular fibroblástica lo cual induce a la formación epitelial (PERUCHI *et al.*, 2001).

2.1.3. Actividad antibacteriana del propóleo

Múltiples estudios bacteriológicos *in vivo* e *in vitro* confirmaron su acción bacteriostática y bactericida. Los responsables de esta propiedad son

los flavonoides, galangina y pinocembrina y derivados de los ácidos benzoicos, ferúlicos y cafeico (BEDASCARRASBURE, 2001).

Un estudio realizado en el departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford, publicado en *Microbiologie Research*, informa que el ácido cinámico y algunos flavonoides desactivan la energía de la membrana citoplasmática, inhibiendo la motilidad bacteriana, haciéndola más vulnerable al ataque del sistema inmunológico y potenciando al antimicrobiano. Previamente se determinó que el propóleo desorganiza el citoplasma, y la pared celular causando bacteriólisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica (MIRZOEVA *et al.*, 1997 y HEINZE *et al.*, 1998).

Diversos autores como Moreno *et al.* (1999); Hady (1994); Hegazy (2002); Amoros *et al.* (1992, 1994); Bankova *et al.* (1996, 2002), citados por PRINCIPAL *et al.* (2004), han reportado en el propóleo además de acción antibacteriana y bacteriostática, acción anestésica, acción cicatrizante, acción antiinflamatoria, acción positiva sobre los mecanismos inmunológicos y acción antifúngica.

El propóleo tiene un efecto antibacteriano a diversos microorganismos entre ellos mencionamos al *Bacillus larvae*, *B. subtilis*, *B. de koch*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces sobrinus*, *S. mutans*, *S. cricetus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Echerichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Bacteroides nodosos*, *Klebsiella pneumoniae*, incluso alguno

(*Streptococcus piogenes*) resistente a los antibióticos (MIRZOEVA *et al.*, 1997; MORENA *et al.*, 1999 y KRELL, 1996).

En un trabajo sobre “Actividad antibacteriana del propóleo”, MANRIQUE (2006) obtuvo resultados que muestran que los extractos etanólicos obtenidos de dos zonas de vida del estado de Miranda, Venezuela, poseen actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*. Todos los extractos etanólicos con una concentración de 15 mg/ml de propóleo estudiados mostraron actividad antimicrobiana, al inhibir el crecimiento del *Staphylococcus aureus* con halos de inhibición de hasta 20 mm.

PRINCIPAL *et al.* (2004) realizaron un estudio para evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 20% y 40% sobre una cepa de origen canino de *Staphylococcus aureus*, basándose en la medición en mm de diámetro el halo de inhibición del crecimiento bacteriano. Los resultados revelaron que la solución alcohólica de propóleo al 40% tiene actividad antibacteriana sobre la cepa de *S. aureus*; siendo su efecto antimicrobiano moderado.

Sin embargo PEREIRA (1999), observó que el propóleo no tiene actividad antibacteriana contra cepas gran negativas, pero si contra todas las cepas gran positivas, y ensayos *in vitro* han demostrado que los extractos de propóleo son más eficaces frente a los cocos gram (+) (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β -haemolyticus*) (KESKIN, 2001).

Por otro lado, ORSI *et al.* (2005), demostraron el efecto bactericida del extracto etanólico de propóleos (EEP) contra la *Salmonella enteritidis* y *S. typhimurium*, concluyendo que el poder bactericida del propóleo contra bacterias gram negativas puede variar de acuerdo a la región geográfica donde sea producido.

Así mismo, SFORCIN *et al.* (2000), señalan que la actividad antimicrobiana del propóleo es el reflejo de sus constituyentes, los cuales pueden variar su composición química, dependiendo de la región y de la estación que sea recolectado. Así tenemos que la actividad antibacterina de los propóleos europeos se deben a sus contenidos en agliconas flavónicas (galangina y pinocembrina) y compuestos fenólicos (pinobanksina, acetato de 3-Opinobanksina, bencil-p-cumarato, esterres del ácido cafeico y ácido ferúlico y cafeico).

CHAILLOU *et al.* (2004) al estudiar propóleos argentinos, encontraron que en el 50% de las muestras se inhibieron en más de 12 mm cepas de *S. aureus*, concluyendo que el diámetro el halo de inhibición depende del contenido de flavonoides de los extractos etanólicos de propóleos utilizados.

El propóleo alemán, rico en feniletíl-trans-cafeato, bencil ferulato y galangina, es más activo, frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, que el francés, rico en bencil cafeato y pinocembrina (HEGAZI, 2000); y el mediterráneo (Bulgaria, Turquía, Grecia y Argelia), compuesto por flavonoides

ésteres de ácido cafeico y ácidos ferulicos, diterpenicos e hidroxiditerpenicos, también muestra propiedades bacteriostáticas y bactericidas significativas (VELICOVA, 2000).

En el propóleo egipcio, la actividad antimicrobiana difiere según la zona de procedencia siendo en el sur del país, frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, alta en el Banisweif, moderada en el Fayoum y baja en Assiut y Souhag. En el delta, los de Dakahlia y El-Saff son activos frente a *Escherichia coli* y los de Sharkia e Ismalia frente a *Staphylococcus aureus* (ABD EL HADY, 2002 y HEGAZI, 2002).

En el propóleo brasileño se han identificado compuestos fenólicos, entre los que destaca el ácido 3,5-dipreneil-p-cumarico, que poseen actividad antibacteriana significativa y sin diferencias estacionales frente a *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus faecalis* (BANKOVA, 2000; SFORCIN *et al.*, 2000 y MARCUCCI *et al.*, 2001).

También, la acción antibacteriana del propóleo dependerá de la especie de abeja, así (MOURA *et al.* 1999) encontraron que los propóleos de las abejas africanizadas presentaron mayores halos de inhibición contra el *S. aureus* que los de abejas europeas.

Los disolventes y el método de extracción utilizado pueden modificar también la actividad antimicrobiana del propóleo (KRELL, 1996 y TOSI *et al.*, 1996).

2.2. Evidencias científicas de la composición química del propóleo (costa, sierra y selva)

Hasta el momento no existe un estudio científico elaborado en nuestro país que haya analizado y determinado exactamente el perfil químico y biológico del propóleo, un producto apícola al cual se le atribuyen una serie de bondades medicinales y que hoy en día se comercializa en importantes cantidades. Ensayos recientes sobre el propóleo de la ciudad de Tacna han demostrado que tiene mayor capacidad de antioxidantes a diferencia de las otras zonas como Ayacucho, Ancash y Satipo (SUAREZ, 2009).

Estudio preclínico hecho en ratas demostró la propiedad hepatoprotectora de este producto, si bien los resultados de este estudio son preliminares, nos ha permitido advertir cómo este producto actúo como hepatoprotector, para lo cual estudiamos las enzimas y metabolitos de defensa antioxidante en el hígado, algo que todavía no se había realizado, al menos en el país (SUAREZ, 2009).

Estudios realizados para la actividad reparadora del propóleo sobre la piel quemada donde se utilizaron 20 ratones a los que se les realizó una quemadura con fenol en la superficie externa de los pabellones de ambas orejas demostraron que en el tratado con propóleo se reflejaba la acción moduladora de la respuesta antiinflamatoria de la misma (BAYRO *et al.*, 2003).

La aplicación tópica de solución hidro-alcohólica de propóleo, acelera la reparación epitelial después de una lesión dentaria (MAGRO- FILHO, 1988 y MAGRO- FILHO, 1990).

Para PARK y COLS (1998), el propóleo con alto contenido de flavonoides demostró ser capaz de inhibir el crecimiento bacteriano del tipo *Staphylococcus aureus*.

2.3. Lesiones cutáneas

VALER y TRUJILLO. (1980) mencionan que las lesiones cutáneas simples no complicadas, tienden a evolucionar en una cura espontánea. Cuando se presentan complicaciones tales como la infección, habrá retardo en la cicatrización como consecuencia del proceso inflamatorio. Los fenómenos fisiopatológicos que se desarrollan en el tratamiento de una herida comprenden dos etapas: secuencias del proceso de curación, después de producida la lesión cutánea por el agente traumático, en el foco lesional se encuentran tejidos total o parcialmente desvitalizados, sangre extravasada, cuerpo extraños y gérmenes.

La inflamación, es una reacción del tejido vivo vascularizado ante una agresión local y está estrechamente relacionado con el proceso de recuperación y con la respuesta inmune del huésped (FERREIRA, 2003).

En la definición de la inflamación, esta es una reacción a la agresión o etiología, las podemos agrupar en cuatro categorías (HUNTER, 1994).

2.3.1. Agentes infecciosos

En esta categoría encontramos a todos aquellos microorganismos que por la relación que establecen con el hospedero son potencialmente dañinos o patógenos para los organismos incluidos aquí las bacterias, hongos, protozoarios, artrópodos, así como sus secreciones o toxinas (HUNTER, 1994).

2.3.2. Agentes físicos

Encontramos a todos aquellos microorganismos que por la relación que establecen con el hospedero son potencialmente dañinos o patógenos para los organismos incluidos aquí las bacterias, hongos, protozoarios, helmintos, artrópodos, así como sus secreciones o toxinas (HUNTER, 1994).

2.3.3. Agentes químicos

Aquí encontramos sustancias que por sus características químicas pueden dañar el tejido por contacto con la piel o mucosa, así como sustancias tóxicas que viajando en la sangre alcanzan órganos internos provocando lesión (HUNTER, 1994).

2.4. Reparación y regeneración de las lesiones cutáneas

2.4.1. Reparación de las lesiones cutáneas

La reparación es el proceso por medio del cual se constituye la continuidad y en ocasiones la morfología y la función de órganos que han sido lesionados. Los intentos del organismo para reparar las lesiones comienzan con el proceso inflamatorio (VALER y TRUJILLO, 1980).

2.4.2. Regeneración de las lesiones cutáneas

Es la sustitución de las células lesionadas por otras células parenquimatosas del mismo tipo a veces sin residuos de lesión previa, se lleva a cabo cuando la destrucción es mínima, las membranas basales se conservan y las células a regenerar son lábiles o estables. La regeneración es aquella que sustituye los tejidos destruidos por otros histológicamente semejantes. Puede ser que la regeneración sea insuficiente o defectuosa, resultando así un proceso de cicatrización mixta. Cuando más especializado sea el tejido, tanto menor será su capacidad de regeneración (VALER y TRUJILLO, 1980).

2.4.3. Cicatrización de las lesiones cutáneas

El proceso de cicatrización está relacionada generalmente con la inflamación, que se presenta en los dos a tres primeros días de haberse herido el tejido; la lesión del tejido da lugar a la liberación de componentes de la sangre en la lesión cutánea, que activan una cascada de formación de

coágulos y proporcionan una matriz para la afluencia de células inflamatorias (GORDON, 1999).

El proceso de cicatrización es toda solución de continuidad en la cubierta cutánea, en la que con frecuencia se produce una simultánea o diferida pérdida de sustancias, por la acción de diversos agentes causantes podrá actuar por fricción, percusión, compresión, tracción y acción mecánica (VALER y TRUJILLO,1980).

GONZALES (2002) indica que la cicatrización empieza muy precozmente en el curso de la inflamación cuando los macrófagos comienzan a digerir los microorganismos que han sobrevivido al ataque de los neutrófilos y detritus de las células parenquimatosas y neutrófilos muertos. Generalmente 24 horas después de la lesión, comienza a proliferar los fibroblastos y las células endoteliales, que forman en un período de 3 a5 días, aun tejido especializado (tejido de granulación).

2.5. Definición de inflamación en heridas cutáneas

La inflamación se define como un tejido vivo vascularizado ante una agresión local y está estrechamente relacionado con el proceso de recuperación y con la respuesta inmune del huésped (FERREIRA, 2003).

La inflamación luego de la injuria (corte), hay una intensa vasoconstricción que contribuye a la hemostasia. Esta es mediada por catecolaminas circulantes y el sistema nervioso simpático y por prostaglandinas

liberadas de células lesionadas. Luego de 10 a 15 minutos es reemplazada por vasodilatación, con eritema y calor, además las prostaglandinas y la histamina induce la formación de espacios entre las células endoteliales de los capilares, espacios por entre lo que se escapa plasma lo que genera edema. Llegan los leucocitos que se juntan con albúmina y globulina para formar la matriz provisional. La vasodilatación, también esta comandada por histaminas y prostaglandinas además de leucocitos y de células endoteliales. El aumento de la permeabilidad favorece la migración de neutrófilos y monocitos al sitio de la lesión (COTRAN *et al.*, 2000).

2.6. Definición de queloide

RIVERA (2000) reporta que la diferencia entre un queloide y una cicatriz queloidea o pseudoqueloidea, que ambas son semejantes en el examen microscópico, ya que las dos son cicatrices hipertróficas. Clínicamente, un queloide verdadero es una cicatriz hipertrófica que continua aumentando más allá del tamaño a las formas originales de la herida. El queloide, aunque más frecuente en individuos de raza negra, puede ser hallado en pacientes de cualquier raza que tengan tendencia a la formación del mismo. Una cicatriz queloidea puede producirse en cualquier herida que esté sometida a excesiva tensión, como también corroboran (COTRAN *et al.* 2000) que para la formación del tejido queloide es propio de células epiteliales humanas y equinos.

FERREIRA (2003) menciona que son lesiones proliferativas benignas, de crecimiento exagerado que sobresalen en la piel, por acumulación

de colágeno, que se desarrollan dentro del proceso de cicatrización normal. En la mayoría de los casos esta formación cicatrizal es la consecuencia inmediata del traumatismo de todo orden y otras veces, las lesiones menos traumáticas se trata de minúsculas cicatrices consecutivas a pequeñas heridas o infecciones de la piel que pudieron pasar inadvertidas; de ahí que toda cicatriz traumática o inflamatoria de la piel sea susceptible de volverse queuloide.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y fecha de ejecución

El experimento se realizó en tres fases, la primera en el laboratorio de sanidad animal, la segunda en un bioterio de la granja Zootécnica y la tercera nuevamente en el laboratorio de sanidad animal ubicados dentro de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), situados en el departamento de Huánuco, provincia de Leoncio Prado, distrito de Rupa Rupa, localidad de Tingo María, localizados geográficamente a 09° 17' 05" de latitud sur y 76° 01' 07" de longitud oeste, con una altitud de 660 m.s.n.m, una humedad relativa promedio de 84%, una temperatura promedio de 24,5 °C y una precipitación pluvial media de 3194 mm, considerado como bosque pre-montano tropical muy húmedo (ALVARADO, 2006).

El presente trabajo de investigación tuvo una duración de 8 meses, del 13 de abril al 31 de noviembre del 2011.

3.2. Tipo de investigación

- Investigación experimental

3.3. Población y muestra

Se utilizaron 16 cuyes machos, 3 meses de edad y del genotipo de la raza Perú, procedentes del galpón de cuyes de la granja zootécnica de la Facultad de Zootecnia. Seleccionados por su peso promedio de 600 g.

3.4. Animales experimentales

Los cuyes fueron, distribuidos 4 cuyes por tratamiento, y cuatro repeticiones donde cada unidad experimental estaba representada por un cuy macho en jaulas individuales.

3.5. Instalaciones y equipos

Se trabajó en un bioterio de forma rectangular, sus dimensiones fueron de 4,40 m de largo x 3 m de ancho x 3,5 m de altura. El piso tuvo una pendiente del 2 %, con puerta de madera a la calle. Entre los equipos se habilito 16 jaulas metálicas individuales, de 40 cm de diámetro y 35 cm de altura.

3.6. Alimentación

Los cuyes fueron alimentados con forraje kudzu (*Pueraria phaseoloides*), dándose una ración de 400 g/día por cuy (durante la mañana y la tarde), así mismo, se les proporcionó un alimento concentrado a una cantidad única de 80 g/día, con la finalidad de uniformizar los requerimientos de todos los animales evaluados.

3.7. Sanidad

Los cuyes fueron desparasitados con ivermectina al (0,1%) con aplicación subcutánea (0,4 ml/ cuy). La desinfección del bioterio y de las jaulas metabólicas, se hizo con cloro (1/2 botella de legia clorox en 5 litros de agua destilada) y detergente luego con el lanza llamas, seguido de una fumigación con cloro (50 gotas) y formol(al 10%) para lo cual se selló el local con plástico evitando que se volatilice rápido estos productos, se mantuvo así durante cinco días, después se aplicó kreso (1/2 litro), Cal viva (óxido de calcio (CaO) 5 k, así mismo, se ubicó en la puerta un pediluvio de 30 x 30 cm con 2 k. de cal, se terminó repasando con cloro por aspersión el área tres días antes de ingresar los animales al bioterio.

3.8. Propóleo

La muestra del propóleo fue adquirido del distrito de Malki provincia de Huánuco, fue recolectado en mallas de polietileno (producto bruto) y sometido a refrigeración, fue retirado de las mallas congeladas usando la técnica de frotación manual, se obtuvo el propóleo.

3.9. Obtención del extracto etanólico de propóleo

Se tuvo 1 K de propóleo granulado, siendo colocado en un envase de vidrio para su respectiva maceración en 1 litro de etanol puro de 96° respectivamente, por un período de 24 días, en un envase con sello hermético, homogenizando diariamente. Luego se separó el producto bruto del extracto

usando gasa médica y la fracción líquida sobrante (extracto) fue filtrado en papel filtro tipo sabana de 80 g/m² de marca MUNKFELL, midiendo un pH de 5.68.

Seguidamente fue sometido a evaporación del alcohol en una estufa a 60 °C, por un tiempo de 24 horas, al observar que no se extrajo todo el etanol ingreso a una estufa con corrientes de aire a 60° C, por un tiempo de 24 horas en el laboratorio de química general, para tener una concentración pura de propóleo se tuvo que tener la muestra al medio ambiente por un tiempo de dos días, como resultado se obtuvo una muestra homogénea y sólida.

3.10. Preparación de las concentraciones de propóleo

Se preparó el total de las concentraciones de 10, 30 y 50 %, para todo el experimento, pesando en una balanza analítica 45 g de vaselina industrial la cual fue sometida a baño maría hasta obtener un líquido diluyente que fue mezclado con 5 g de propóleo de forma homogénea con ayuda de una vara de vidrio colocada luego en un frasco de plástico con su respectiva rotulación.

Para la concentración del 30 % se pesó 15 g de propóleo y 35 g de vaselina industrial respectivamente, en el caso de la concentración del 50 % se pesó 25 g de propóleo y unos 25 g de vaselina realizando el mismo proceso del primer porcentaje.

3.11. Inducción de la herida y administración del producto

Para producir la herida se realizó un corte de pelo para bajar el volumen, luego con un afeitador se rasuro el área delimitada de 130 mm, de diámetro posteriormente se hizo una línea en círculo de demarcación con un plumón indeleble para lo cual se utilizó un molde de mica, se le aplicó anestesia local (lidocaína 2 % con epinefrina 1/80,000) en tres partes del borde delimitado la cantidad de 0.02 mm, luego con un bisturí se delimitó los bordes y se extrajo la muestra de piel. Seguidamente a ello se administró el producto (pomada a base de propóleo), con las concentraciones respectivas de 10 %, 30% y 50%, con hisopos en frotis por animal en la parte dorsal del cuy. Se registró la longitud de avance de reparación de las heridas en los días de 3, 7, 11 y 15, entre una y otra evaluación. La medición que se realizó fue por el método planímetro.

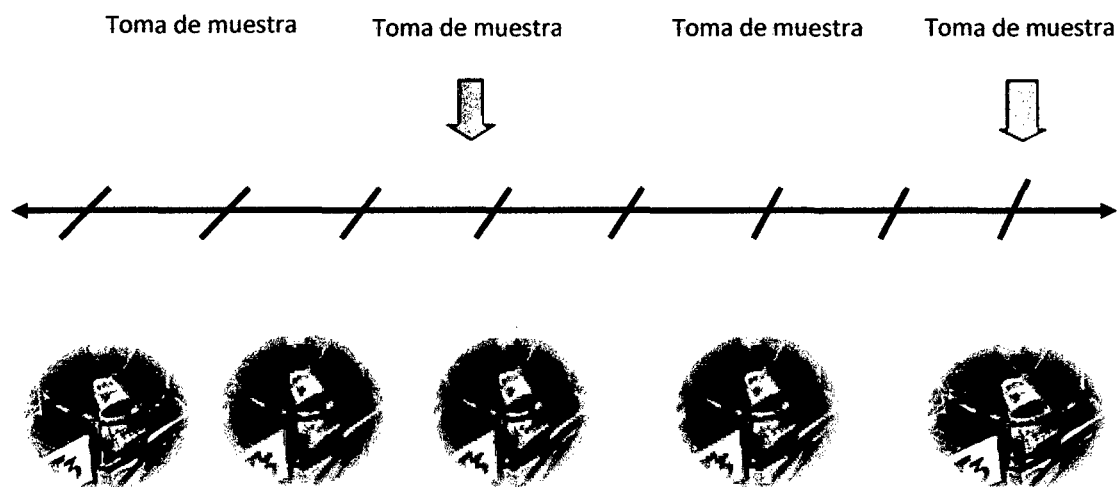


Figura 1. Evaluación de los días para los cortes histológicos.

3.12. Medición de la longitud mediante el método planimétrico

El método planimétrico es usado en la geología, con el objetivo de medir aberturas en superficies; se fundamenta en aplicar un plano metrado, sobre la superficie a evaluar, la evaluación del área es el avance de la abertura o cierre de la misma. Para el trabajo se adecuó este método llevándolo a nivel milimétrico, para lo que se utilizó una filimina de copia de hoja milimetrada para realizar los cálculos de granulación de la herida (TAFUR, 2002).

3.13. Evaluación histológica del grado de reparación

Para determinar microscópicamente el grado de reparación se procedió de la siguiente manera:

Se extrajo de cada tratamiento una muestra (biopsia) para la evaluación microscópica tomando un cuy de cada tratamiento en los respectivos días (3, 7, 11 y 15), haciendo un total de 16 biopsias que fueron evaluadas.

Estas biopsias fueron colocadas en formol al 10% con la finalidad de que fueran fijadas cada una de estas muestras. De cada uno de estas muestras fijadas se obtuvo un trozo de tejido el cual se sometió a un proceso de deshidratación en soluciones de alcohol en concentraciones crecientes y a temperatura de 80° reduciendo así el tiempo de estancia en cada muestra:

Según ALZOLA (2001), describe el protocolo histológico de la siguiente manera:

3.13.1. Inclusión

- Introducir en alcohol corrientes 1 a 80° por 1 hora
- Pasar alcohol corriente 2 por 1 hora a 80 °C.
- Alcohol corriente número 3 por 1 hora a 80 °C.
- Alcohol absoluto número 4 por 1 hora a 80 °C.
- Luego a xilol número 5 por 1 hora a 80 °C.
- Luego a xilol número 6 por 1 hora a 80 °C.
- Luego a parafina número 1 por 1 hora a 80 °C.
- Luego a parafina número 2 por 1 hora a 80 °C.
- Luego a parafina pura por 1 hora a 80 °C.

3.13.2. Realización de los tacos

- Preparar las barras de leukart y la base formando un rectángulo
- Depositar una pequeña cantidad de parafina licuada.
- Colocar las piezas en el fondo de la base.
- Agregar parafina hasta el borde de la barra.
- Dejar secar o solidificar poniendo el rótulo en la parte superior de forma vertical.

- Luego sacar las placas con pequeños golpecitos en la barra.
- Luego llevar a congelación.

3.13.3. Corte

- Calibrar el taco de parafina incluida con la muestra hacia adelante topando al ras de la cuchilla.
- Hacer un corte para nivelar los cortes.
- Hacer el corte para la lámina (a 6 μm).
- Sacar la película de parafina con la ayuda de una pinza.
- Luego llevarlo a un recipiente que contenga agua y alcohol.
- Tomar con una lámina portaobjetos en forma de pesca y llevarlo a baño maría este debe estar a 60 ó 70 °C.
- Hacer la pesca y echar albúmina por la parte posterior de la película.
- Luego llevar a estufa a 80° C.

3.13.4. Procedimiento de coloración (Hematoxilina – eosina)

- Colocar en el alcohol por 24 horas
- Estufa: secar
- Xilol: 5 enjuagues

- Xilol: 5 enjuagues
- Alcohol: 5 enjuagues
- Alcohol: 5 enjuagues
- Agua corriente: 10 lavadas
- Hematoxilina: 5 minutos
- Agua corriente: 10 lavadas
- Agua ácida: 2 enjuagues
- Agua corriente: 10 lavadas
- Agua amoniacal: 4 lavadas
- Agua corriente: 10 lavadas
- Eosina: 5 minutos
- Alcohol corriente: 8 enjuagues
- Alcohol corriente: 8 enjuagues
- Alcohol corriente: 8 enjuagues
- Estufa: secar
- Xilol: 4 enjuagues
- Xilol: 4 enjuagues
- Dejar secar a temperatura ambiente.

3.14. Evaluación macroscópica de la longitud del grado de reparación

La longitud del grado de reparación se obtuvo por la diferencia entre la longitud del diámetro inicial de la herida menos la longitud de la herida aún abierta. Las evaluaciones fueron tomadas en los días 3, 7, 11, 13, 15. Esta evaluación está representada por la Figura 2 donde se observa el grado de reparación.

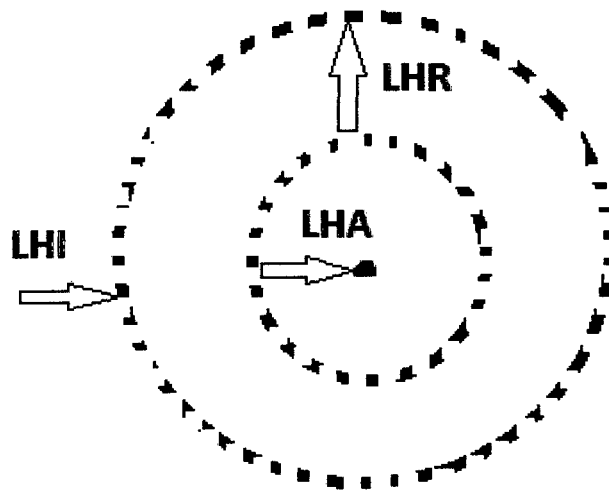


Figura 2. Grado de reparación de la herida cutánea.

$$\text{LONGITUD RECUPERADA DE LA HERIDA} = \text{LHI} - \text{LHA}$$

3.15. Variable independiente

- Resina de propóleo
- Grado de reparación de las heridas en cuyes.
- Forma de reparación tisular de las heridas en cuyes.

3.16. Tratamientos

















T0 : Testigo

T1 : Pomada de propóleo al 10 %

T2 : Pomada de propóleo al 30 %

T3 : Pomada de propóleo al 50 %

3.17. Croquis de distribución de los tratamientos

T/R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
T ₀				
T ₁				
T ₂				
T ₃				

3.18. Diseño estadístico

El análisis estadístico que se usó en el presente trabajo de investigación, es el diseño completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos y 3 repeticiones por cada uno; y cuyo modelo aditivo lineal fue:

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

Donde:

Y_{ij} : j -ésima observación de la herida, bajo el i -ésimo tratamiento

U : Media poblacional

T_i : Efecto del i -ésimo tratamiento. (i : 1,2,3,4)

E_{ij} : Error experimental

3.19. Variable dependiente:

- Tiempo de reparación de las heridas en cuyes.

IV. RESULTADOS

4.1. Evaluación del efecto de propóleo en la reparación de heridas cutáneas

El Cuadro 1 así como las estructuras histológicas muestra que el T3 (Fig.13, 14, 15, 16) con porcentaje del 50% con pomada a base de propóleo presenta mejores resultados con relación a los demás tratamientos, de acuerdo al análisis de varianza ($P>0.01$). El tratamiento (T2), con pomada a base de propóleo al 30 % y el tratamiento (T1) diferenciándose al quinceavo día. Existiendo diferencia significativa ($P>0.01$), frente al testigo, lo cual es confirmado por las estructuras histológicas frente al T2 (Fig.9, 10, 11, y 12) y al T3 (Fig.13, 14, 15,16).

Cuadro 1. Evolución de la longitud de reparación en (mm) de heridas cutáneas, en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo (12/05/2011 al 14/10/2011- laboratorio de sanidad animal – UNAS).

Tratamientos	Promedio de la longitud de reparación de heridas (mm/área)					
	0	3	7	11	13	15
TO (testigo)	130.0 ^C	130.0 ^C	69.75 ^b	33.00 ^b	18.7500 ^b	0.35000 ^b
T1 (10%)	130.0 ^C	129.25 ^b	69.00 ^b	31.75 ^b	11.500 ^{ba}	0.05000 ^b
T2 (30%)	130.0 ^C	118.0 ^b	65.75 ^b	29.50 ^b	9.500 ^a	0.02500 ^b
T3 (50%)	130.0 ^C	104.750 ^a	50.00 ^a	25.50 ^a	2.750 ^a	0.00000 ^a

1. Promedios seguidos por letras diferentes en la misma columna difieren significativamente entre sí ($P>0,01$) a la prueba de Tukey.

2. Donde: a = excelente, b = regular, c = malo

En la Figura 3 la longitud de reparación cutánea en el tratamiento (T3), con un porcentaje al 50%; la longitud de reparación se caracteriza por tener una secuencia de forma lineal y de regresión lineal progresiva. Esta longitud de reparación cutánea en el T3 es superior estadísticamente a los demás tratamientos ($P > 0,01$), tal como se observa en las estructuras histológicas (Fig. 13, 14, 15, 16); (Fig. 9, 10, 11, 12); (Fig. 5, 6, 7, 8, 9) y del T0.

El tratamiento (T3), difiere de los demás tratamientos a partir del segundo día, comportándose igual estadísticamente al tratamiento (T1) y tratamiento (T2) culminando un proceso de reparación al treceavo día, con el 10% y las estructura histológicas (Fig. 5, 6, 7, 8) y 30% (Fig. 9, 10, 11, 12), finalizando al quinceavo día.

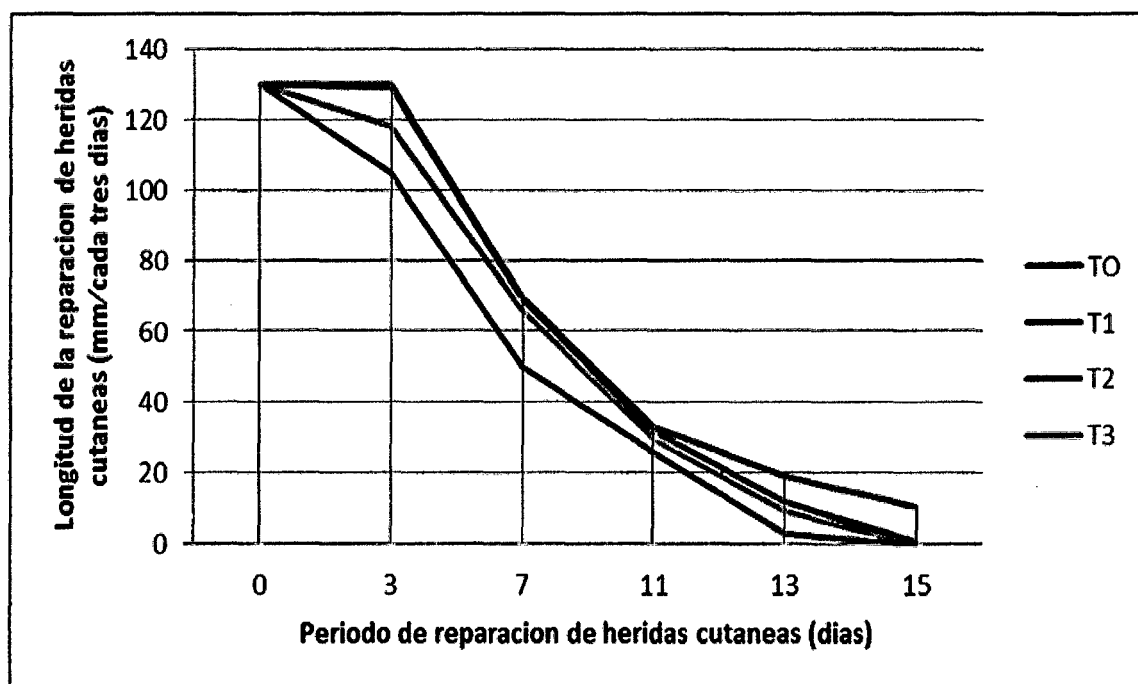


Figura 3. Evolución de la reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes tratados con pomada a base de propóleo.

El Cuadro 2 muestra que el tratamiento (T3), con pomada a base de propóleo al 50% presenta mejores resultados con relación a los demás tratamientos de acuerdo al análisis de varianza ($P>0,01$), además la evaluación de la reparación fue de trece días; revelando una velocidad constante frente a los otros tratamientos así como se puede apreciar en la estructura histológica (Fig. 13, 14, 15, 16).

Cuadro 2. Evolución del grado de avance en heridas cutáneas en (mm) en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo. (12/05/2011 al 14/10/2011- laboratorio de sanidad animal – UNAS).

Tratamientos	Promedio de avance de reparación de heridas cutáneas			
	0 al 3	3 al 7	7 al 11	11 al 13
TO(testigo)	30.250 ^b	72.50 ^b	42.25 ^b	16.750 ^b
T1 (10%)	17.000 ^b	66.50 ^{ba}	36.50 ^b	15.500 ^{ba}
T2 (30%)	12.500 ^b	60.75 ^{ba}	31.25 ^b	11.250 ^{ba}
T3 (50%)	6.250 ^a	37.00 ^a	20.50 ^a	7.0 ^a

1. Promedios seguidos por letras iguales en la misma columna no difieren significativamente entre sí ($P>0,01$) a la prueba de Tukey pero si numéricamente entre sí.

2. Donde: a = excelente, b = regular

El tratamiento (T0) histológicamente (Fig. 1, 2, 3 y 4) presenta diferencia significativa frente al tratamiento (T3), entre el avance del grado de reparación del 3 al 7 y 7 al 11, presentando una mayor significancia al treceavo día. Siendo este avance superior a los demás tratamientos ($P>0.01$).

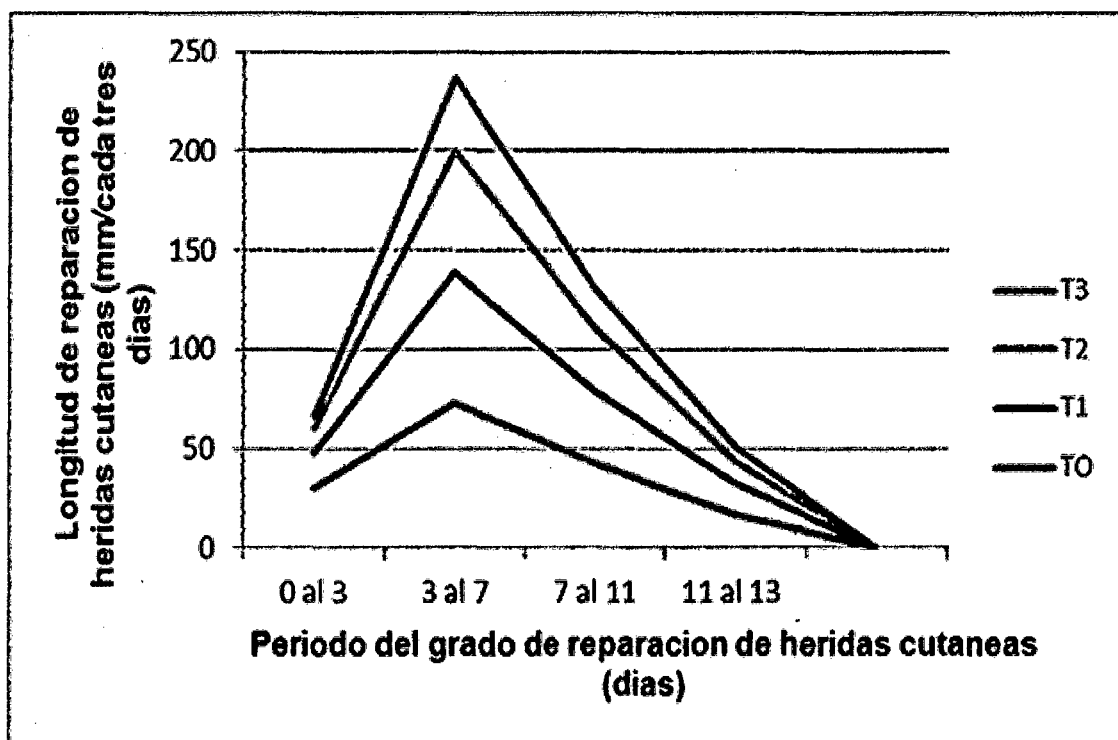


Figura 4. Evolución de la longitud del grado de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes tratados con pomada a base de propóleo.

4.2. Descripción microscópica del estudio histológico

En la lesión tratada con agua destilada (testigo) por tres (3) días, se observó la persistencia de la lesión con exposición del tejido conectivo adyacente (**), se observó la presencia de neo-formación epitelial (NFE), hay presencia de tejido germinal epitelial (Figura 5).



Figura 5. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 3 días.

En la lesión tratada con agua destilada por un período de siete (7) días se observó un coágulo dentro del vaso sanguíneo (CV), en la periferia de la lesión, hay una ligera neo-formación epitelial (NFE). Existe presencia de hemorragia sanguínea (H) (Figura 6).

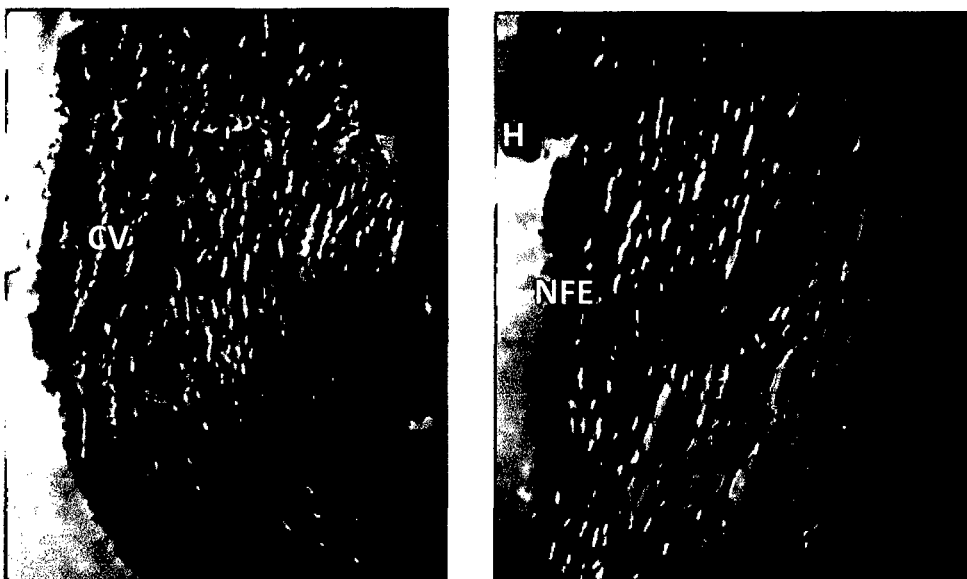


Figura 6. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 7 días.

Después de once (11) días de tratamiento con agua destilada se observó, abundante tejidos capilares (C), producción de fibras de colágeno (FC), concentración celular de tipo macrófago (M), se observó presencia de tejido epitelial organizado (TEO), hay presencia de vasos sanguíneos (VS) (Figura 7).

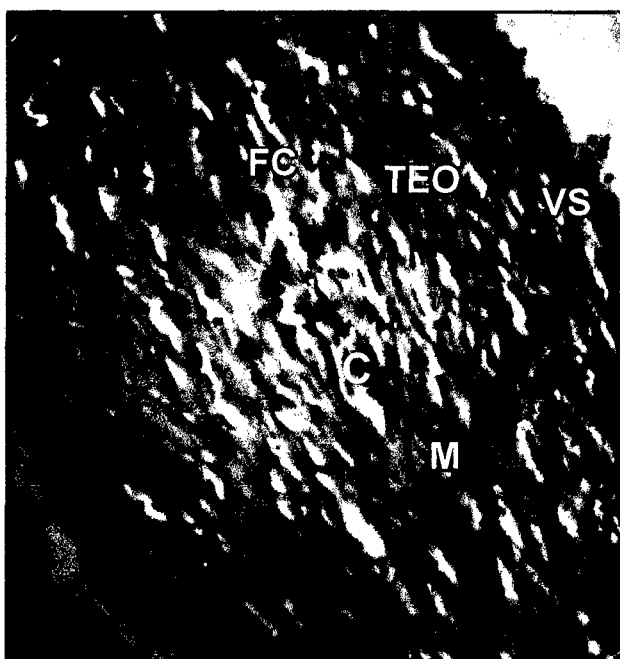


Figura 7. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 11 días.

En la herida tratada con agua destilada por quince (15) días, se observó neo-formación epitelial fina (NFE), tejido epitelial organizado y compacta (TEO y C), presencia fibroblastos (F) (Figura 8).

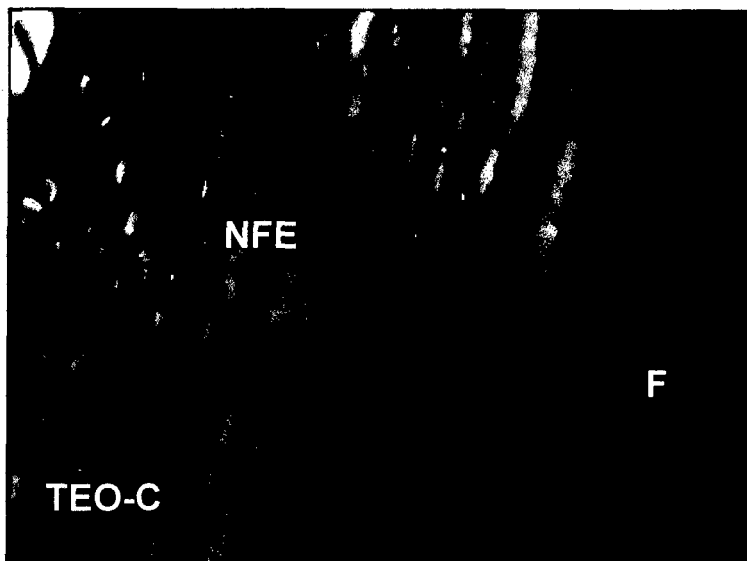


Figura 8. Corte histológico con agua destilada (testigo) por período de 15 días.

La lesión tratada con pomada a base de propóleo al 10% por un periodo de tres (3) días, se presentó ligera neo-formación epitelial adyacente (NFEa), presencia de plasmócitos (P), agregación de eritrocitos en la superficie (E) (Figura 9).

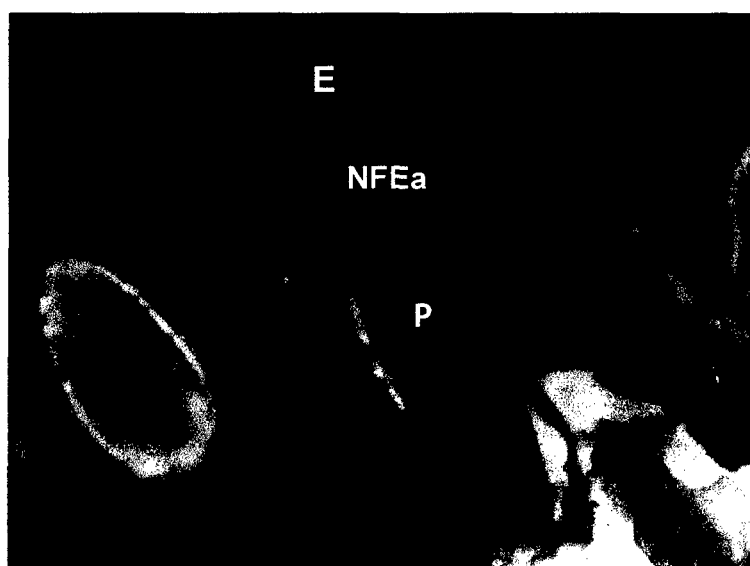


Figura 9. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 3 días.

Cuando la lesión fue tratada con la misma pomada por un período de siete (7) días se observó la proliferación de queratinocitos superficiales (Q), existe la reorganización del tejido conjuntivo (RTC) y capilares sanguíneos (CS) (Figura 10).

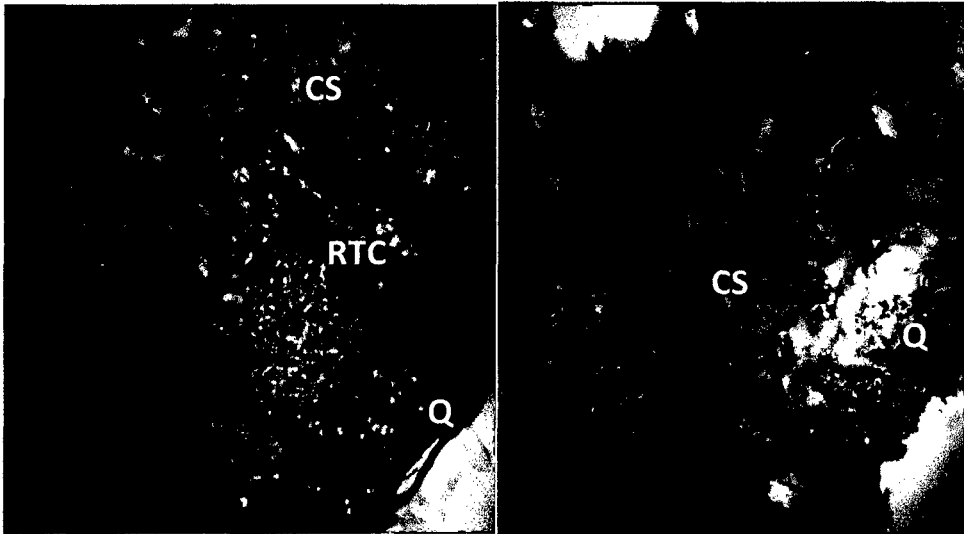


Figura 10. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 7 días.

Después de once (11) días de tratamiento con pomada a base de propóleo al 10%, se observó la neo-formación de capa cornea (Cc), abundante proliferación de mitosis (M), presencia de queratinocitos (Q), y producción de neo-formación de capilares (NFc) (Figura 11).

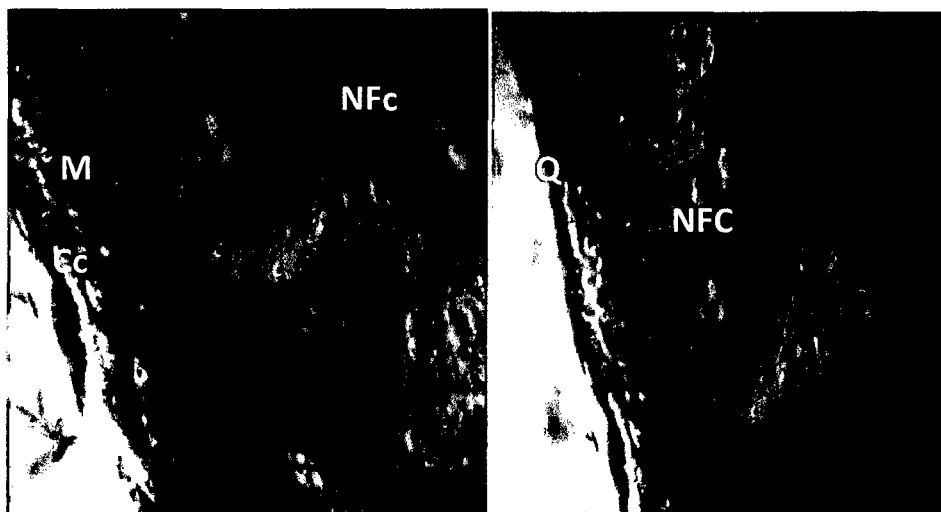


Figura 11. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 11 días.

A los quince (15) días de tratamiento con pomada a base de propóleo al 10%, se observó neo-formación epitelial cubriendo la lesión (NFE). Epitelio organizado con una camada de queratina (Q). El tejido conectivo (TC) se presenta normal con neo-formación fibrilar (NFf) (Figura12).

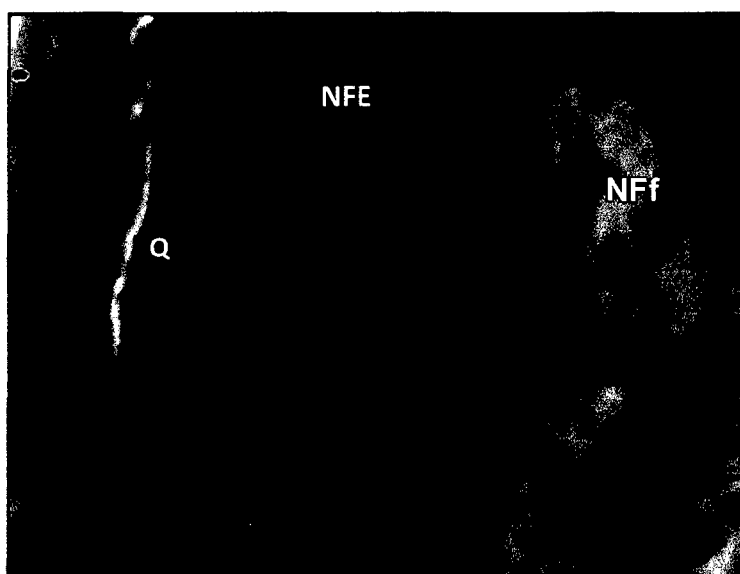


Figura 12. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 10% por período de 15 días.

La pomada a base de propóleo al 30% por tres (3) días, provocó la neo-formación del tejido epitelial (NFE), abundancia de queratinocitos (Q), una red de fibrina con plasmócitos (RF-P) y macrófagos (M), numerosos vasos sanguíneos (VS) (Figura 13).

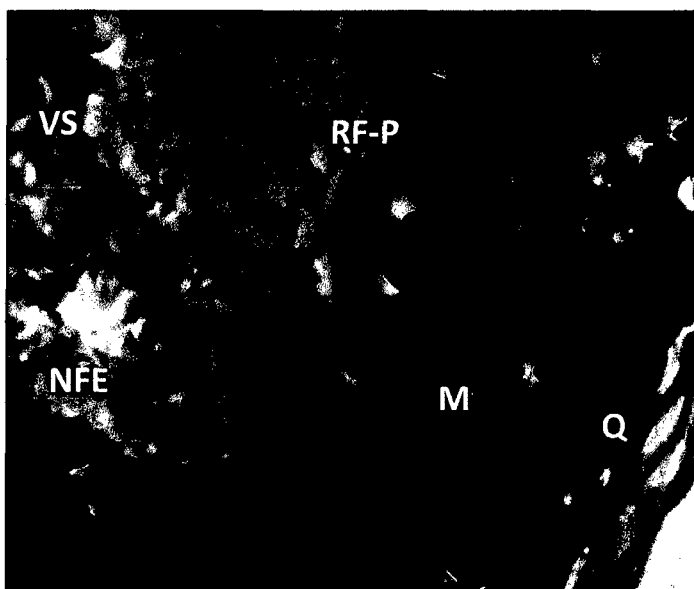


Figura 13. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 3 días.

En la herida tratada por siete (7) días con la misma pomada, se observó neo-formación epitelial con estratificación celular (NFE-Ec), células basales con figuras de mitosis (CB-Fm), Además neo-formación de colágeno (NFc) (Figura 14).

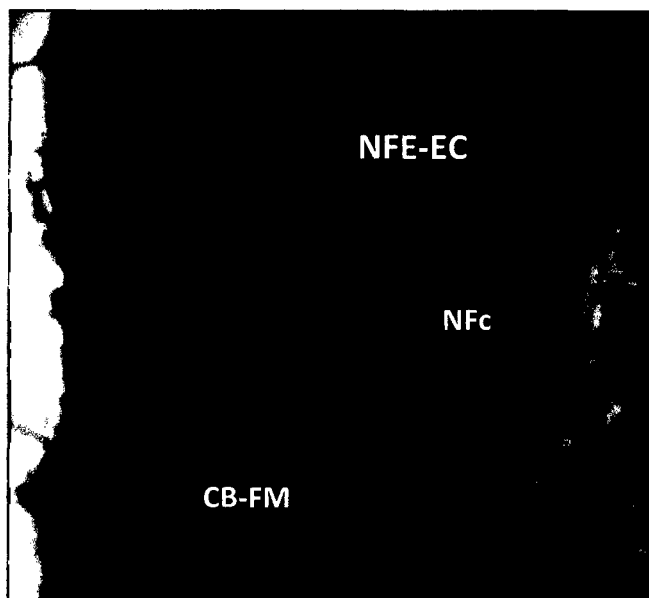


Figura 14. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 7 días.

En la herida tratada por once (11) días con la misma pomada, mostro una estratificación del epitelio (EE), proliferación de capilares (C), hay presencia de hiperemia (H), fibroblastos (F), que recubren el tejido conjuntivo. (Figura 15).

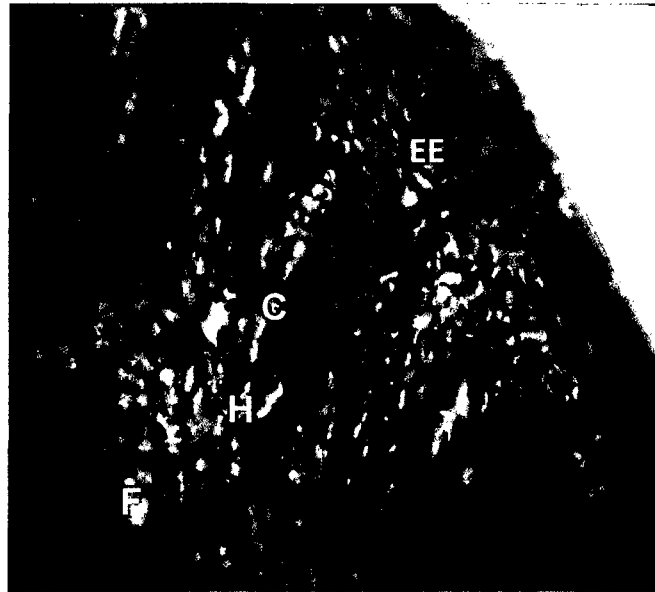


Figura 15. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 11 días.

Luego de quince (15) días con la misma pomada, se observó tejido epitelial organizado y fina (TEO y F) y presencia de queratina (Q), asimismo tejido conectivo con vasos sanguíneos (VS), proliferación de fibroblastos (F) (Figura 16).

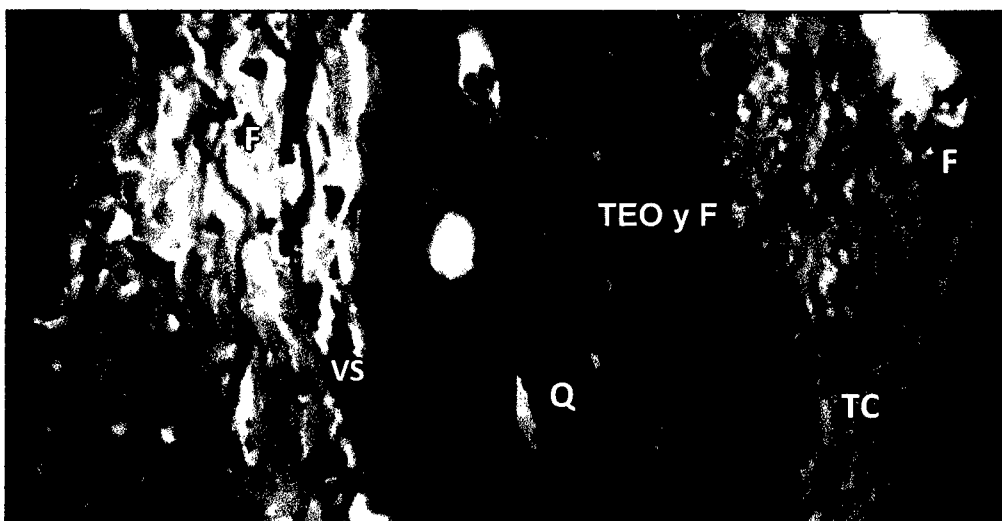


Figura 16. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 30% por período de 15 días.

La herida tratada con pomada a base de propóleo al 50% por un periodo de tres (3) días, se presentó con neo-formación del tejido epitelial (NFE), la organización de los queratinocitos (Q), así mismo la proliferación de vasos sanguíneos con hiperemia (VS-h), presencia de fibras colágenas (F C) y fibroblastos (F) (Figura 17).

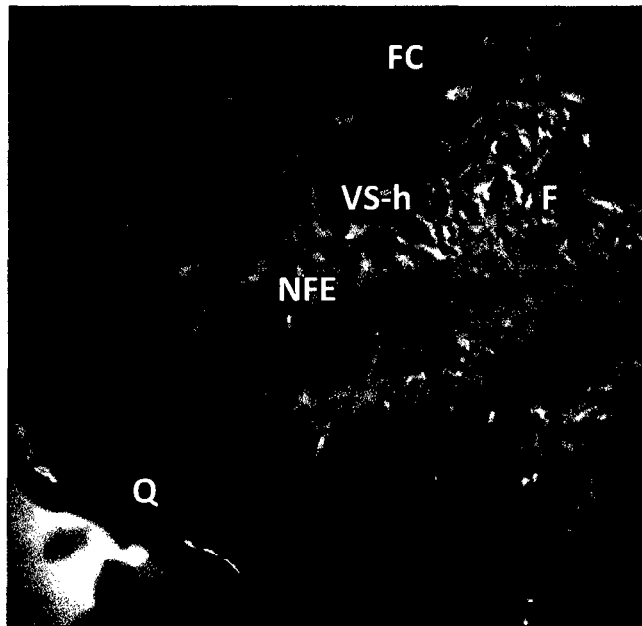


Figura 17. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por periodo de 3 días.

Cuando la lesión fue tratada con la misma pomada por un período de 7 días, se observó tejido epitelial estratificado (TEE), capa de queratina bien formada (Q), proliferación de vasos, abundante hiperemia (H), existe estímulo rápido de reparación, abundante células de mitosis (m), producción de fibroblastos en la base del tejido epitelial (F) (Figura 18).

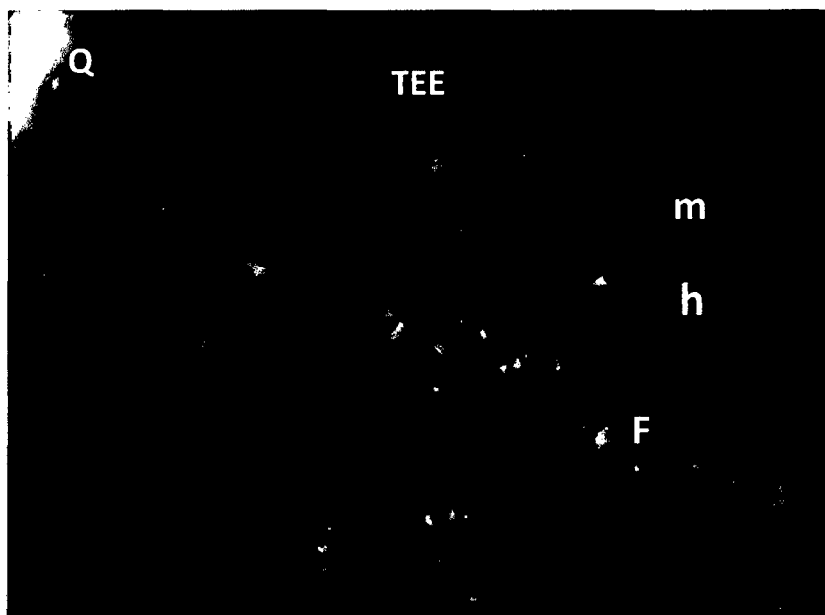


Figura 18. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por período de 7 días.

En la herida tratada por 11 días con la misma pomada, mostro un tejido epitelial bien diferenciado, proliferación sanguíneo con hiperemia (PS-h), proliferación de fibroblástos en la parte basal del tejido epitelial, producción de fibroblástos (F), abundante células de mitosis (m) (Figura 19).

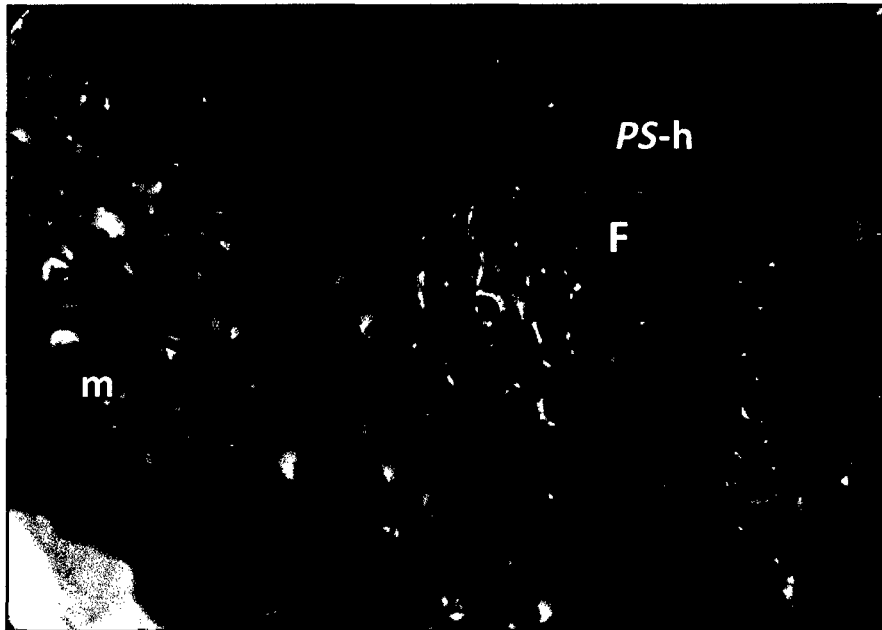


Figura 19. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por período de 11 días.

Luego de 15 días con la misma pomada a base de propóleo al 50%, se observó tejido epitelial estratificado (TEE), capilares sanguíneos con hiperemia (CS-h), proliferación de fibroblastos en la parte basal del tejido epitelial (PF-bte) (Figura 20).

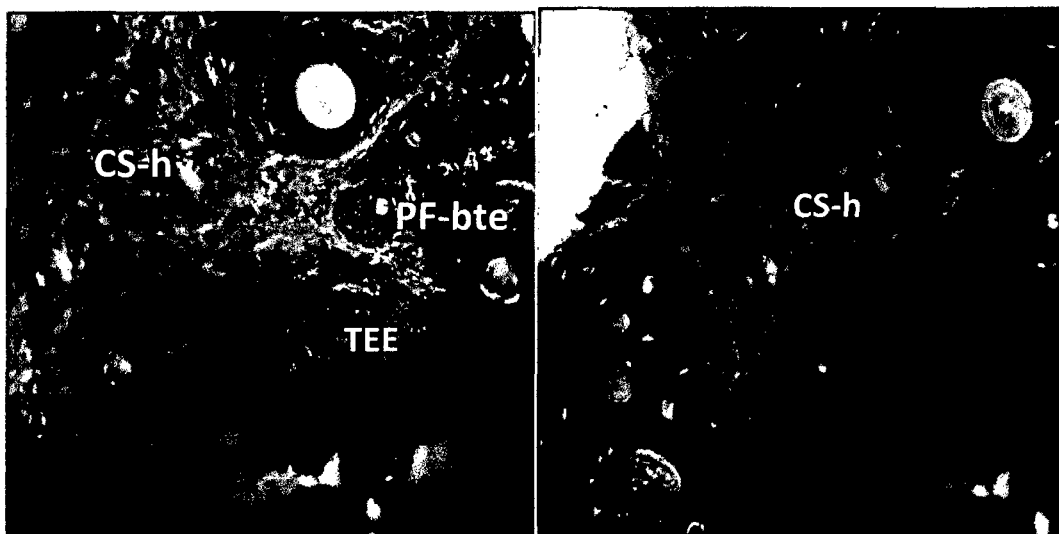


Figura 20. Corte histológico con pomada a base de propóleo al 50% por período de 15 días.

V. DISCUSIÓN

5.1. Longitud de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes

De acuerdo a la investigación realizada con pomada a base de propóleo se observa diferencia significativa ($P > 0.01$) en relación a la longitud de reparación del Cuadro 1 y Figura 1 entre los demás tratamientos en estudio, el T3 con pomada a base de propóleo al 50% la mejor reparación de la herida cutánea produciendo en 13 días resultado favorable lo cual no coincide con lo mencionado por (CERSI, 2000), quien empleó el propóleo en medicina para tratar heridas cutáneas demostrando resultados superiores en la restauración de tejidos cutáneos.

Esta recuperación se debe a que en las heridas cutáneas en cuyes se observó una reparación la cual sustituye los tejidos destruidos por el mismo tejido histológicamente semejante. Puede ser que la restauración sea insuficiente o defectuosa, resultando así un proceso de reparación mixta. Cuando más especializado sea el tejido, tanto menor será su capacidad de regeneración en la cual el tejido epidérmico es restablecido por nuevo tejido epidérmico tal como lo mencionan (VALER y TRUJILLO, 1980). Las sustancias responsables posiblemente sean los flavonoides, galangina y pinocembrina y derivados de los ácidos benzoicos, telúricos y ácidos fenólicos, cafeico, siendo estas las propiedades del propóleo (BEDASCARRASBURE, 2001). Estas

sustancias al mismo tiempo contribuye a la acción antibacteriana y bacteriostática, acción anestésica, acción cicatrizante, acción antiinflamatoria, acción de regeneración de los tejidos (Moreno *et al.*, 1999; Hady, 1994; Hegazy, 2002; Amoros *et al.* 1992,1994; Bankova *et al.*, 1996, 2002; citados por PRINCIPAL *et al.*, 2004).

Histológicamente el T2 (Fig. 9, 10, 11 y 12), inicia muy similar al T1 (Fig. 5, 6, 7 y 8), para luego comportarse diferente al T3 (Fig. 13, 14, 15, 16). El T3 tiene una regeneración líneal finalizando a los 13 días, comportándose de forma diferente histológicamente. El T2, presenta neo-formación de tejido epitelial abundante en queratinocitos, presencia de plasmócitos, macrófagos, red de fibrina, numerosos vasos sanguíneos, estratificación celular, proliferación de fibroblastos ya que según (ALZOLA ,2001) demuestra mayor diferencia significativa con el T3, la cual muestra tejido epitelial estratificado capilares sanguíneos con hiperemia.

5.2. Evaluación del grado de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes

En la investigación el uso del propóleo se observó diferencias significativas ($P > 0.01$) entre los tratamientos en estudio, el tratamiento (T3) del onceavo día al treceavo día nos muestra un grado de avance de reparación de la herida por completo presentando una mejor evolución de reparación de las heridas cutáneas frente a los demás tratamientos (T2, T1 y T0), por lo que se reporta a un grado de reparación avanzado con una ligera inflamación

presentándose solo el segundo día, lo cual se corrobora con lo mencionado por (COTRAN *et al*, 2000 y PRINCIPAL *et al*, 2004).

5.3. Forma de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes

Las observaciones finales sobre la forma de reparación nos revela que los tratamientos T0, T1, T2, T3; con pomada a base de propóleo en las heridas no formaron tejidos queloides tal como se puede observar histológicamente. Esto se debe a que los queloides suelen aparecer a una atrofia en la parte central continua en su crecimiento, excede el tamaño de la lesión y nunca regresa y siempre aparece más frecuente en zonas en contra de las líneas larmen y en superficies flexores. Histológicamente los queloides presentan importante vascularización con adelgazamiento de la epidermis y gran densidad de fibroblastos, la síntesis y degradación de colágeno están aumentando lo cual explica (RIVERA, 2000 y COTRAN *et al*, 2000).

Lo que se viene buscando en tratamientos médicos alternativos está siendo desarrollado desde algunos años alrededor del mundo. Según MAGRO (1998), la solución hidro-alcolica de propóleo no se mostró irritante a los tejidos de la epidermis, evidenciando proliferación conectiva acelerada hasta el décimo día post-operatorio en las heridas subcutáneas de ratones, tratados con una pomada a base de confrei, miel y propóleos. Por otro lado según (PARK y COLS, 1998), el propóleo con alto contenido de flavonoides demostró ser capaz de inhibir el crecimiento bacteriano de tipo *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, existe una gran variación en la composición de

flavonoides en los extractos etanólicos de propóleos recogidos de diferentes regiones de Brasil. Según (MATSUNO, 1997), el propóleo actúa de forma sorprendente en la inflamación de los tejidos, nuestro trabajo concuerda con este autor, ya que pudimos verificar a través del análisis histológico de las lesiones.

Al tercer día la pomada a base de propóleo al 10% de mostro que no había una reacción inflamatoria acentuada, presentando una ligera neoformación epitelial proveniente de los márgenes de la herida, no habiendo presencia de deshidratación, ni hemorragia. Al séptimo día de tratamiento con la pomada al 10% mostro proliferación de queratinocitos, reorganización del tejido conjuntivo, capilares sanguíneos, presencia de neoformación vascular es considerada importante, ya que según (ROBBINS y COLS, 1984) y (HENRY y EMLIG, 1994) la función de la inflamación es remover tejidos degenerados, preparando la región para la reparación. Esta función sólo acontece a través de las alteraciones vasculares que se iniciaron prematuramente. Al onceavo y quinceavo día de tratamiento con la pomada al 10% todas las alteraciones producidas fueron benéficas, conduciendo a una rápida regeneración del tejido. Hubo neoformación fibrilar, proliferación de mitosis. Y abundancia de neoformación capilar, que promovió la cicatrización del tejido conjuntivo después de la proliferación fibroblástica y de la síntesis de los componentes extra-celulares.

En la reparación con propóleo al 30% al séptimo día se observó la presencia de macrófagos, lo cual no ocurrió en el tratamiento con agua

destilada para el mismo período de tiempo. Hubo regiones con ausencia de células inflamatorias y homogeneidad del tejido ya que según (PARK y COLS, 1998), la herida quirúrgica tratada con pomada al 50% se presentó mayormente diferente de aquella observada con la pomada al 10% y 30%.

La concentración al 50%, de cierta forma provoco un mayor avance en la reparación, ya que hubo la presencia del tejido epitelial estratificado sin, presencia de resecamiento en los períodos iniciales del tratamiento, acompañado de una regeneración en los procesos de revascularización apareciendo proliferación de fibroblastos y capilares sanguíneos. Ya que según (MAGRO-FILHO, 1998) y (MAGRO-FILHO,1990). La neo-formación epitelial de la herida con pomada al 50% fue muy rápida, al compararla con la pomada al 30% y 10%. El tejido que cubre la lesión que fue tratada con la pomada al 50% es muy diferente de la fibrina que cubre la lesión tratada con agua destilada, en el mismo período de tiempo, lo cual coincide con (PARK, 1998) que el tejido se presentó más denso y con gran cantidad de células voluminosas donde hubo mayor producción de células, cuando se compara con el tratamiento de agua destilada al día siete nos lleva a pensar que las células del grupo propóleo están en un período más avanzado de diferenciación.

VI. CONCLUSIONES

- La longitud de reparación nos indica que la mejor concentración de pomada a base de propóleo fue aquella preparada al 50% demostrando así resultados altamente satisfactorios frente a las otras concentraciones de 10% y 30% estudiadas, las cuales fueron corroboradas histológicamente.
- El tiempo de reparación se acortó con mayor grado de avance al tratar la herida al 50% y en segundo lugar microscópicamente se observó que la epidermis se repara mediante regeneración.
- Al comparar la longitud de reparación de las heridas cutáneas entre los T1, T2, y T3 se puede observar diferencia significativa, demostrando así que en el T3 existió mejor avance de reparación.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar trabajos de investigación con pomada a base de propóleo en tejido muscular con la concentración obtenida al 50%. asociados con otros productos que contengan resina.

VIII. ABSTRACT

The present research study was carried out at Health Lab of the Animal Science Faculty of the National Forestry Agrarian University, Tingo María, Huánuco, Perú. The objective of this research was to determine the effect of medical pomade containing different concentrations of propolis on the skin wounds length, time and histological way of reparation. For this purpose 16 Peru breed guinea pig three month old were used. These specimens were distributed in four treatments: 0% (T0), 10% (T1), 30% (T2), 50% (T3) of propolis and four repetitions with a complete randomized design (CRD). A initial surgical 130 mm diameter skin biopsy on the dorsal region were performed to all guinea pigs and the propolis pomade was applied by a cotton bud on 24 hours interval until the skin wound reparation process ended. The measure of wound reparation length by a planimetric method and wound biopsies separation by surgical method were performed at 0, 3, 7, 11 and 15 days post initial surgical biopsy. Skin tissues were fixed in 10% formalin solution, processed and hematoxilin-eosin stained. Data was evaluated by variance analysis and Tukey test ($p>0.01$). Skin wound reparation length in T3 was different from the other treatments ($p>0.01$) after the third day. T3 at thirteenth day show complete reparation comparing with T1 and T2 which repaired completely beyond fifteenth day. This information allowed to conclude that the Propolis stimulated vascular, epithelial and fibroblastic neoformation. Wounds

reparation length and time improved in relation to propolis content in the medical pomade and in the histological way of reparation predominated epithelial regeneration.

Key words: Propolis, skin wound, tissue regeneration, wound reparation.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD EL HADY, F., HEGAZI, A. 2002. Egyptian propolis:2 Chemical Composition, antiviral and antimicrobial activities of east Nile delta propolis. *Z Naturforsch*; 57 (3-4): 386 - 394.
- ALVARADO, J. 2006. Estación meteorológica. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Huánuco.
- ALVAREZ, A. 2000. Caracterización de propóleos argentinos. I- Delta del Río Paraná. *Anales del Congreso Internacional de Propóleos*. Buenos Aires, Argentina.
- ALZOLA, R. 2001. Curso de histología, embriología y teratología. Técnicas histológicas. UNCPBA (Facultad de Ciencias Veterinarias). [En línea]: Vet.unicen.edu, (<http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Documentos/Tecnicashistologicas.pdf>, documentos, 01 Dic. 2011).
- BANKOVA, V. 2000. Determining quality in propolis samples. *J Am Apither soc*; Vol. 7 N°2.
- BASNET. 1997. Potent free radical scavenging activity of propolis isolated from Brazilian propolis. [En línea]: Mexicoapicola, (<http://www.mexico>

apicola.org/contenido/Actividad%20Antimicrobiana_Delgado.pdf,
documentos, 25 Feb. 2011).

BAYRO, G., FIGUEROA, V., FIGUEROA, V. 2003. Morfomeria de la piel Quemada tratada con Propóleo. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cuzco. 12 (23): 45 – 46.

BEDAS, E. 2001. Propóleos: Un valioso producto de la colmena. Instituto PROAPI. Buenos Aires, Argentina. Boletín Técnico 7 p.

BEDASCARRASBURE, E. 2001. Propoleos: Un valioso producto de la colmena. Instituto PROAPI, Buenos Aires, Argentina. Boletín técnico 7 p.

BELLON, F., CALZADILLA, A. 2007. Efectividad del uso del propóleo en el tratamiento de la estomatitis aftosa. Instituto de Ciencias Médicas de la Habana. Facultad de Estomatología. Cuba. [En línea]: Sld, (http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/efectividad_del_uso_del_propoleo_en_el_tratamiento_de_la_estomatitis_aftosa.pdf, documentos, 13 Nov. 2011).

BLOOD, C.; HENDERSON, A. y RADOSTITS, M. 1986. Medicina Veterinaria 6ª. ed. México, D.F. Interamericana. [En línea]: Scielo.cl, (http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X1997000100020&script=sci_arttex, documentos, 15 Nov. 2011).

CERCI, M. 2000. The effect of propolis extract in experimental chemical corneal injury. Ophthalmic Res. 32(1): 13 -18.

- CHAILLOU, A., HERRERA, H., MAIDANAS, J. 2004. Estudios de propóleo de Santiago del Estero, Argentina. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 24(1): 11-15.
- CIZMARIX, A., MATEL, J. 1970. *Apicultura básica. Composición química del propóleo.* 3ed. Argentina. 52 p.
- COTRAN, R., KUMAR, V., COLLINS, T. 2000. *Patología estructural y funcional.* 6 ed. Madrid, España, Mac Grauw hill. p.117-118.
- FERREIRA, V. 2003. *Patología veterinaria.* Universidad de Antioquia. Antioquia. p. 45-46.
- GONZALES, E. 2002. Modelos experimental para la evaluacion de la accion cicatrizante de medicamentos. *Rev Cubana Farm.* (36).
- GORDON, F. 1999. Pilot study, of treatment of active ulcerative colitis with natalizumab, a humanized monoclonal antibody to alpha-4 integrin. *Aliment Pharmacol Ther*;16:699-705. (CD Rom. *Aliment Pharmacol Abstract*, 1999).
- HEGAZI, A., ABD EL HADYF. 2002. Egyptian propolis: 3. Antioxidant, antimicrobial activities and chemical composition of propolis from reclaimed lands. *Z Naturforsch*; 57 (3-4): 395- 402.
- HEINZE, W., HOLZ, J., NATTERMANN, H., BLANKESNTEIN, P. 1998. Effects of ethanol extracts of propolis against common fungi and virusis of. *Veterinary importance. Tierarztl Umsch*; 53 (6):321- 326.

- HENRY, T.O., EMLING, R.C. 1994. Inflamacao: uma revisao da processo. 4 ed. Chicago, Quitessence Books, 172 p.
- HUNTER, J. 1794. Veterinary pathology.6ed. [En línea]: Fesc, (<http://fesc.cuautitlan2.unammx/patologia/Articulos/Inflamcion.htm>, documentos, 24 Feb. 2011).
- KOO, H., ROSALEN, P.L. 1999. Efeito da propolis de Apis mellifera sobre as glucosiltransferase. Anais da 16° reunião anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontologica – Divisao Brasileira da IADR. Aguas de São Pedro, S.P; 208 p.
- KRELL, R. 1996. Value – added products from beekeeping FAO Agricultural Services Bulletin Nº 124. Rome, Italia. 1996.
- MAGRO-FILHO, O. 1990. Application of propóleo to dental sockets and wounds”.J.Nihom.Univ.Dent.,[Enlínea]: Ncbi, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2345377>, documentos, 22 Feb. 2011).
- MAGRO-FILHO, O. 1991. Acao topica da propolis na reparacao de sulcoplastias pela tecnica de kazanjian modificada. Avaliacao citológica e clínica em pacientes.Tese em cirugia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial- Doutorado, Aracatuba. Facultado Estadual Paulista, 145 p.
- MANRIQUE, J. 2006. Actividad antimicrobiana de propoelos provenientes de dos zonas climaticas del estado miranda, Venezuela. Efecto de la Variación estacional. Revista: Zootecnia tropical 24 (1): 43-53 p.

- MARCUCCI, M.C. 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin, *Apidologie* 31: 3-15. [En línea]: Vetuy.com, (http://www.vet-uy.com/articulos/artic_apic/003/ap003.htm. documentos, 21 Feb. 2011).
- MATSUNO, T. 1997. Oefeito terapeutico da própolis. v.1. São Paulo, Brasil. Editorial Abaeté. 131 p.
- MAURA, F., IKEGAKI, S., YALENCAR, H. 1999. Abelhas europeias Vs. Abelhas africanizadas: Estudio Comparativo de sua própolis. *Revista de Universidade de Franca (Edição Especial) I Simposio Brasileiro sobre própolis e Apiterapicos*, 7 (7): 44p.
- MENEZES, H. 2005. Propolis uma revisão dos recentes estudos de suas propiedades farmacológicas. *Arq. Inst. Biol.* 72:405-411 p.
- MERCATI, D. 2005. Invierno de Bienestar con Propóleo y Grindelia *Revista: Aboca informa. Italy. Edición de agosto (2005):*10-13 p.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA DE BRASIL. 1999. Reglamento técnico para la fijación de identidad y calidad de propóleos – Brasil – *Revista Mensagem Doce* N° 52 – Julio de 1999 – Apacame. [En línea]. VET, (http://www.vet-uy.com/articulos/artic_apic/003/ap003.htm. documentos, 28 Feb. 2011).
- MIRZOEVA, K., GRISHANIN, N., CALDER, C. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its Components: the effects on growth, membrane potencial and motility of bacteria. *Microbiol Res*; 152(3): 239-246 p.

- MIRZOEVA, K., GRISHANIN, N., CALDER, C. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its Components: the effects on growth, membrane.potencial and motility of bacteria. *Microbial Res*; 152(3):239-246 p.
- MORENO, M., CODMANI, G., VATTUONE, A., SAMPIETRO, R. 1999. Screening of antibacterial activity of amaicha del valle (Tucuman, Argentina) propolis. *J Etnophamaol*; 68 (1-3) : 97-102 p.
- NAGAY, T. 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry*.
- NAKAJIMA, Y. 2007. Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects *via* antioxidants actions. *Life Sciences* 80:370-377.
- OLIVEIRA, A.C. 2006. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onycomycosis lesions. *Mem.Inst. Oswaldo Cruz (Brazil)* 101: 493-497.
- ORSI, R., RALL, C., FUNARI, L., FERNANDES, A. 2005. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. *J. Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 11 (2): 109 -116 p.
- PARK, Y.H. 1998. Andamento das pesquisas sobre propolis na UNICAMP. *Mensagen Doce*.47: 6-8 p.

- PEREIRA, H. 1999. Acción antibacteriana de um preparado a base de propóleo. Investigación Cubana sobre el propóleo. Procedimientos sobre los efectos del propóleo en la salud humana y animals. Varadero Cuba 1988: 78-82 p.
- PERUCHI, S., SILVA, B., ANDRADE, A., FRANCO, L., RAMALHO, L., 2001. Efecto del Propóleos en la Cicatrización de Lesiones Subcutáneas Inducidas en el Dorso de Ratones, Estudio Histológico. Universidad Estatal Paulista Julho de Mesquita Filho. Rev.Fac.Brasil. Estado de São Paulo. [En línea]: Uees.du.sv, (<http://www.uees.edu.sv/carreras/odontologia/publicaciones-odontologia/pub/efecto-del-propóleos-en-la-cicatrizacion.pdf>, documentos, 28 Nov. 2011).
- PRINCIPAL, J., PACHECO, N., BARRIOS, C., CORRARES, F. 2004. Actividad Antibacteriana In Vitro del Extracto Etanolico de propóleo sobre una cepa clínica de Staphylococcus aureus. Universidad Centrooccidental.1Estacion de Apicultura. [En línea]: Ucla.edu.velccc, ([http://pegasus.Ucla.edu.velccc/Vol 11 -1 principal % 20 articulogc vcorregido % 5B2 % 5D.htm](http://pegasus.Ucla.edu.velccc/Vol%2011%20-1%20principal%20articulogcvcorregido%205B2%205D.htm),25/10/2011). documentos, 20 Oct. 2011).
- RIVERA, V. 2000. Fisiología de la cicatrizacion. [En línea]: Medicosecuador, (<http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/>, documentos, 28 Nov. 2011).
- ROBBINS, J., COLS, P. 1984. Patología estructural e funcional, 5ª ed; cap.1 y 3, Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. [En línea]: Uees.du.sv, (<http://www.uees.edu.sv/carreras/odontologia/publicaciones-odontologia/>

[pub/efecto-del-propóleos-en-la-cicatrizacion.pdf](#), documentos, 28 Nov. 2011).

SFORCIN, M., FERNANDES, A., BANKOVA, V., FUNARI, R. 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J. Ethnopharm.*, 73: 243-249 p.

SISA, J. 1996. Apicultura práctica y medicinal: Propolis. [En línea]: Ecoaldea, (<http://www.ecoaldea.com/apicultura/propolis.htmnn>, documentos, 28 Oct. 2011).

SUAREZ, S. 2009. Vida y futuro. Primer estudio local sobre el propóleo. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). [En línea]: El comercio, (<http://blogs.elcomercio.pe/vidayfuturo/2011/03/elaboraran-primer-estudio-loca.html>, documentos, 2 Oct 2011).

TOSI, B., DONINI, A., ROMAGNOLI, C., BRUNI, A. 1996. Antimicrobial activity of some Comercial extracts of propolis prepared with different. Solvents. *Phytother Res*; 10(4):335-336.

UNIVERSIDAD DE OXFORD. 1996. Actividad antimicrobiana de muestras de propoleo. [En línea]: Scholar, (http://scholar.google.es/scholar?hl=es&q=universidad+de+oxford+investigaciones+con+propoleoen+1996&lr=&as_ylo=&as_vis=1, documentos, 2 Oct 2011).

VALER, V., TRUJILLO, F. 1980. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. [Enlínea]. Sisbib, (<http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/Medicina>, documentos, 25 Feb. 2011).

VELIKOVA, M. 2000. Propolis from the Mediterranean region : Chemical composition and antimicrobial activity. Z Naturforsch; 55 (9-10): 790-793.

VIII. ANEXO

Anexo 1. Datos obtenidos durante la investigación

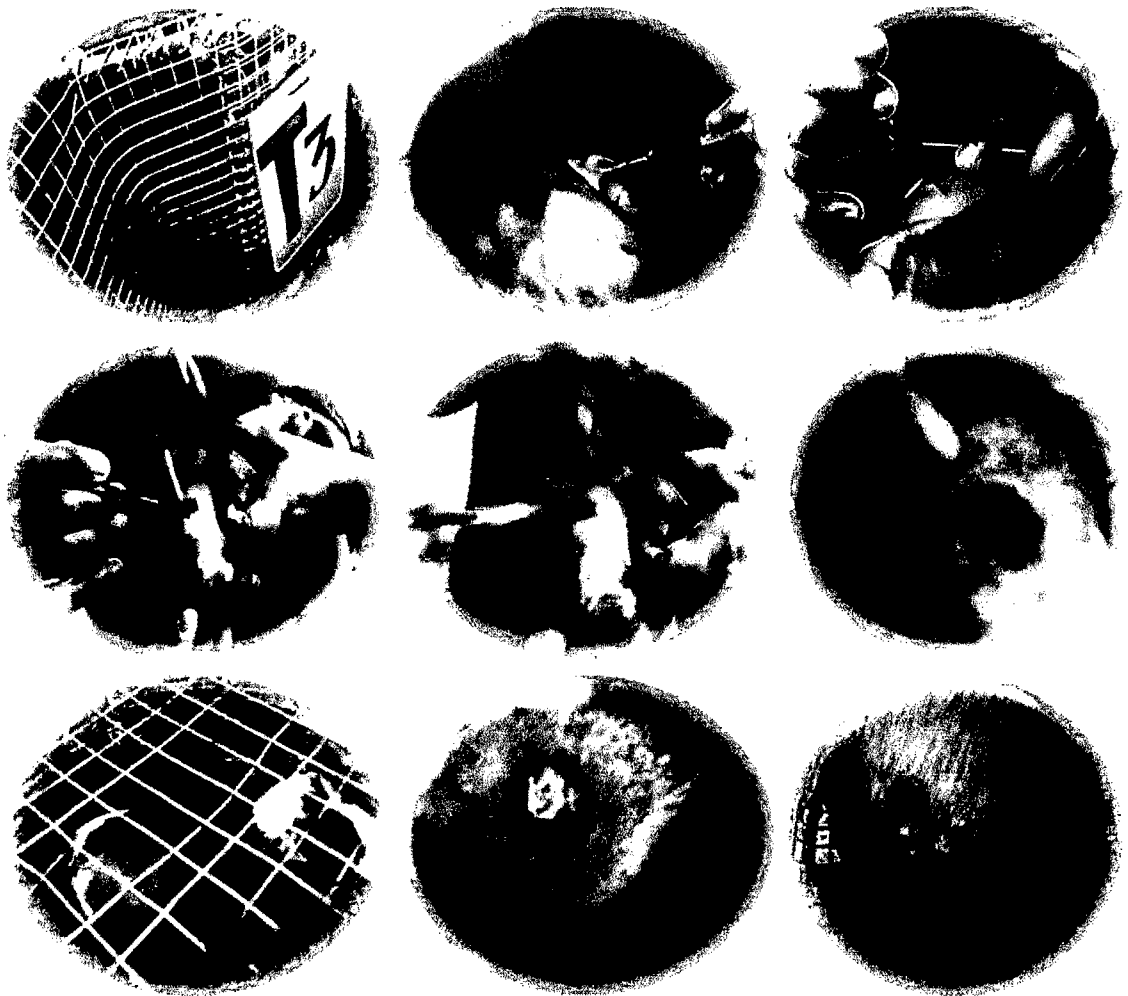
Cuadro 3. Evolución de la longitud de reparación en (mm) de heridas cutáneas, en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo (12/05/2011 al 14/10/2011- laboratorio de sanidad animal – UNAS).

Tratamientos	Promedio de la longitud de heridas reparadas evaluadas en (mm/área)					
	0	3	7	11	13	15
TO	130	130	69.75	33	18.75	10.5
T1	130	129.25	69	31.75	11.5	0.5
T2	130	118	65.75	29.5	9	0.025
T3	130	104.75	50	25.5	2.75	0

Cuadro 4. Evolución del grado de avance en heridas cutáneas en (mm) en la zona dorsal derecho por efecto de la aplicación de la pomada a base de propóleo (12/05/2011 al 14/10/2011- laboratorio de sanidad animal – UNAS).

Tratamientos	Promedio de avance de las heridas reparadas			
	0 al 3	3 al 7	7 al 11	11 al 13
T0	30.25	72.5	42.25	16.75
T1	17	66.5	36.5	15.5
T2	12.5	60.75	31.25	11.25
T3	6.25	37	20.5	7

Anexo 2. Panel fotográfico



1er día de medición

2do día de medición

Figura 21. Imágenes tomadas durante el corte del trabajo de investigación.