

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA



**RESPUESTA TISULAR A LA APLICACION DE EXTRACTO
DE PINCO-PINCO (*Ephedra americana*) EN MUCOSA ORAL Y
TEJIDO ÓSEO DE COBAYOS (*Cavia porcellus*), PUNO 2017**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. JOHN EDUARDO ZAPANA QUISPE

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO – PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA

TESIS

RESPUESTA TISULAR A LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE PINCO-
PINCO (*Ephedra americana*) EN MUCOSA ORAL Y TEJIDO OSEO DE
COBAYOS (*Cavia porcellus*), PUNO 2017.

PRESENTADA POR:

Bach. JOHN EDUARDO ZAPANA QUISPE



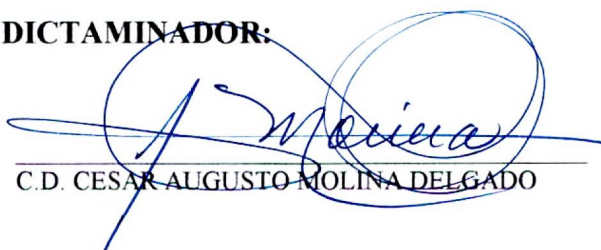
PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

Sustentada el 05 de junio del 2018

APROBADA POR EL JURADO DICTAMINADOR:

PRESIDENTE:


C.D. CESAR AUGUSTO MOLINA DELGADO

PRIMER MIEMBRO:


M.Sc. KANDY FAVIOLA TUERO CHIRINOS

SEGUNDO MIEMBRO:


M.Sc. KAREN PAOLA PINEDA PALOMINO

DIRECTOR / ASESOR:


M.G. SONIA CAROLL MACEDO VALDIVIA

Área : BIOLOGÍA DEL SISTEMA ESTOMATOGNATICO

Tema : FITOTERAPIA. PRODUCTOS NATURALES DE USO EN ODONTOLOGIA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 05-06-2018

DEDICATORIA

Especialmente dedicado a:

A mi padre Sr. Felix Leonardo

A mi madre Sra. Marcelina

A mis hermanas Srta., Mishell Jessenia y Luly Paola

Gracias a su apoyo incondicional en todo momento de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por bendecirme a cada momento.

A la UNA-Puno por permitirme estudiar en sus aulas.

A los señores miembros del jurado, por su apoyo y asesoramiento.

Al Directora de tesis, Dra. Sonia Macedo, quien con su orientación permitió la realización de este proyecto.

Al Lic. Lorgio Palacios, quien brindo en todo momento su apoyo.

Al Dr. Wilbert Arocutipa, por su asesoramiento.

Al Dr. Felix Garnica, por su colaboración.

Al Sr. Prudencio Gil y Sra. Dina Suaquita por su apoyo y motivación.

Y finalmente a las Srtas. Katya Rina, Mariela Katia, Sandy, Erika y Sr. Lenin Vladimir por su apoyo y colaboración.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	10
ABSTRACT	11
I. INTRODUCCIÓN	12
1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACION	12
1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA	12
1.3. IMPORTANCIA Y UTILIDAD DE ESTUDIO	13
1.4. OBJETIVOS DE ESTUDIO	13
1.5. CARACTERIZACION DEL AREA DE INVESTIGACION	14
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACION.....	15
2.2. MARCO TEORICO	24
2.2.1. EPHEDRA AMERICANA Humb. et Bompl. ex Willd.	24
2.2.1.1. DESCRIPCIÓN	24
2.2.1.2. TAXONOMÍA	25
2.2.1.3. PRINCIPIOS ACTIVOS	25
2.2.2. CAVIA PORCELLUS	27
2.2.2.1. DESCRIPCIÓN	27
2.2.2.2. TAXONOMÍA	27
2.2.2.3. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA CABEZA Y CUELLO DEL COBAYO	28
2.2.2.4. DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE MUCOSA ORAL Y TEJIDO ÓSEO NORMAL.....	28
2.2.3. PROCESO DE LA REPARACION	30
2.2.4. RESPUESTA TISULAR DE MUCOSA ORAL	30
2.2.5. RESPUESTA TISULAR DE TEJIDO OSEO	33
2.3. HIPOTESIS	35
III. MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1. NIVEL DE INVESTIGACION.....	36
3.2. TIPO DE INVESTIGACION.....	36
3.3. POBLACION Y MUESTRA	36
3.4. CRITERIOS DE INCLUSION	37
3.5. CRITERIOS DE EXCLUSION	37
3.6. TAMAÑOS DE LA MUESTRA	37
3.7. TECNICA.....	38

3.8. INSTRUMENTOS	38
3.9. PROCEDIMIENTO	38
3.10. VARIABLES	40
3.11. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	41
3.12. RECURSOS	42
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. RESULTADOS	46
4.2. DISCUSION	56
V. CONCLUSIONES	59
VI. RECOMENDACIONES	60
VII. REFERENCIAS	61
ANEXOS	65
ANEXO A: acta de aprobación de proyecto de tesis.....	65
ANEXO B. Informe de prueba piloto.....	66
ANEXO C. Ficha quirúrgica, de aplicación de extracto y toma de muestra.....	67
ANEXO D. Ficha de observación	68
ANEXO E. Constancia de laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas.....	70
ANEXO F. Constancia de lectura de láminas histológicas.	71
ANEXO G: Informe de Anatomía Patológica.....	72
ANEXO H: Constancia de laboratorio de la facultad de ciencias agrarias.	73
ANEXO I: Resultados de análisis de extracto de <i>Ephedra americana</i>	74
ANEXO J. Constancia de venta de modelos experimentales biológicos	75
ANEXO K. Prueba t de student.....	76
ANEXO M. Análisis de varianza y prueba de Tukey.	78
ANEXO L. Galería de fotografías.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Respuesta tisular (reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	48
Figura 2. Respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	51
Figura 3. Respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	53
Figura 4. Respuesta tisular (remodelamiento en tejido óseo) a 28 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	55
Figura 5. Histológica normal de mucosa oral y tejido óseo de Cavia porcellus.....	95
Figura 6. Reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo a 1 día posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentración de 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.....	96
Figura 7. Reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior en Grupo Control.....	96
Figura 8. Proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentración de 75% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.....	97
Figura 9. Proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) posterior a 7 días en Grupo Control.....	97
Figura 10. Remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) a 14 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentración de 75% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	98
Figura 11. Remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) posterior a 14 días, en Grupo Control.	98
Figura 12. Remodelamiento en tejido óseo) a 28 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones, 75% en tejido óseo de C. porcellus.	99
Figura 13. Remodelamiento en tejido óseo) posterior a 28 días en Grupo Control.	99

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Operacionalización de variables	41
---	----

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Respuesta tisular (reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	46
Tabla 2. Respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	49
Tabla 3. Respuesta tisular (remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) a 14 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.....	52
Tabla 4. Respuesta tisular (remodelamiento en tejido óseo) a 28 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.	54

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

INIA: Instituto Nacional de Innovación Agraria - Illpa

GEA: Grupo Experimental A

GEB: Grupo Experimental B

GEC: Grupo Experimental C

GED: Grupo Experimental D

GCA: Grupo Control A

GCB: Grupo Control B

GCC: Grupo Control C

GCD: Grupo Control D

LPMN: linfocitos polimorfonucleares

IL-1b: interleucina 1b

MMPs: metaloproteinasas de la matriz

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la respuesta tisular a la aplicación extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) en mucosa oral y tejido óseo de cobayos (*Cavia porcellus*). Materiales y métodos: La presente investigación está clasificada dentro del nivel de investigación aplicada, es de tipo experimental, prospectivo, longitudinal y analítico. La técnica de recolección de datos fue por medio de la observación, dado que se evaluó la respuesta tisular a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*E. americana*) en concentraciones 50%, 75% y 100% en tejido óseo y mucosa oral de *C. porcellus*. La muestra estuvo conformada por 16 cobayos (*C. porcellus*) con peso de 500 gramos y 4 meses de edad aproximadamente, distribuidos en 4 grupos. En cada modelo experimental (cobayo) se consideró la siguiente distribución: primer cuadrante: grupo control; segundo, tercer y cuarto cuadrante para los tratamientos con *Ephedra americana* a 75%, 100% y 50% respectivamente). Se realizó estudios histopatológicos de láminas para evaluar en grado de reparación tisular a las 1, 7, 14, 28 días. La presente investigación cumple con los acuerdos tomados por el Consejo Internacional de Ciencias Médicas, en cuanto a los principios éticos universales aplicables a cualquier investigación en la que se usan animales de experimentación. Resultados: el análisis de datos estadísticos muestra una significancia ($p < 0.05$) en el tratamiento con extracto de *E. americana* induce a una cicatrización de la mucosa oral en 14 días; sin embargo el tejido óseo la regeneración no ha completado a los 28 días, pero es significativo debido al desarrollo de la vascularización en comparación con los demás grupos. Conclusiones: el tratamiento con extracto de *Ephedra americana* acelera el proceso de reparación de la mucosa oral y tejido óseo.

PALABRA CLAVE: Respuesta tisular, *Ephedra americana*, cobayo.

ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the tissue response to the application of Pinco-pinco extract (*Ephedra americana*) in oral mucosa and bone tissue of guinea pigs (*Cavia porcellus*). Materials and methods: The research is classified within the level of applied research, is experimental, prospective, longitudinal and analytical. The technique of data collection was by the application of Pinco-pinco extract (*E. americana*) in concentrations 50%, 75% and 100% bone tissue and oral mucosa of *C. porcellus*. The sample consisted of 16 guinea pigs (*C. porcellus*) weighing approximately 500 grams and 4 months of age, distributed in 4 groups. In each experimental model (guinea pig) the following distribution is analyzed: first quadrant: control group; second, third and four quadrants for treatments with American Ephedra at 75%, 100% and 50% respectively). Histopathological studies of slides were performed to evaluate the degree of tissue repair at 1, 7, 14, 28 days. This research complies with the agreements made by the International Council of Medical Sciences, regarding universal ethical principles, a research in which experimental animals are used. Results: the analysis of statistical data shows a significant ($p < 0.05$) in the treatment with extract of *E. americana* to induce a healing of the oral mucosa in 14 days; However, the bone tissue regeneration has not completed at 28 days, but like the development of vascularization compared to the other groups. Conclusions: the treatment with *Ephedra americana* extract accelerates the repair process of the oral mucosa and bone tissue.

KEYWORDS: Tissue response, *Ephedra americana*, guinea pig.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACION

El objetivo de la investigación es determinar la respuesta tisular en mucosa oral y tejido óseo (por traumatismo inducido) de cobayos (*Cavia porcellus*) a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) a 1, 7, 14 y 28 días de haberse provocado la lesión y aplicado el tratamiento con extracto de *Ephedra americana*.

La respuesta tisular es un desencadenamiento rápido y marcado que tiende a delimitar el foco, que es variable dependiendo de la injuria, y que concluye con la reparación del tejido afectado o muerte celular, tejido u organismo¹. Actualmente la reparación de tejidos dañados es uno de los principales objetivos de la las ciencias médicas, que ha llevado al uso de dispositivos o materiales que faciliten el proceso de reparación tisular tanto en cicatrización (mucosa oral) como en regeneración (tejido óseo). Los traumatismos en la cavidad bucal que involucran a la mucosa oral y tejido óseo son generalmente fracturas en la región facial, así mismo los tratamientos quirúrgicos como las exodoncias², cuya evolución depende de factores que faciliten o perjudiquen su resolución (edad, estado nutricional, tipo de tejido, hidratación, irrigación sanguínea, respuesta inmunológica, enfermedades crónicas terapias de radiación y otros)³.

Ephedra americana posee características farmacológicas que pueden ser usados en la medicina alternativa como remedio universal dado sus propiedades como antidisentérico, antiinflamatorio, hemostático, diurético, tratamiento para afecciones renales, sudorífico, antipirético, sedante para la tos estimulante respiratorio, midriático y para el tratamiento de las fracturas⁴.

La presente investigación propuso el uso terapéutico de *Ephedra americana*, considerando sus propiedades medicinales⁴ que pueden influenciar favorablemente en el desarrollo de la reparación tisular.

1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Cuál es la respuesta tisular en mucosa oral y tejido óseo (por traumatismo inducido) a la aplicación de extracto de Pinco-Pinco (*Ephedra americana*) de cobayos (*Cavia porcellus*), Puno. 2018?

1.3. IMPORTANCIA Y UTILIDAD DE ESTUDIO

Considerando que el tipo de investigación es Experimental *in vivo*, tiene implicancias clínico-farmacológico en el campo de la cirugía bucal, maxilofacial, periodontal y cirugía general, dado que la planta acelera el proceso reparativo en mucosa oral y tejido óseo. Además de considerar que *Ephedra americana* es propia de la sierra peruana, el cual mediante la medicina alternativa puede mejorar la calidad de vida de la población que presenta lesiones o injurias recientes en región facial.

1.4. OBJETIVOS DE ESTUDIO

OBJETIVO GENERAL

Determinar la respuesta tisular en mucosa oral y tejido óseo (por traumatismo inducido) de cobayos (*Cavia porcellus*) posterior a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*), Puno 2017.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la respuesta tisular, **reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo** (por traumatismo inducido) de *C. porcellus* a **1 día** posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100.
- Evaluar la respuesta tisular, **proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo** (por traumatismo inducido) de *C. porcellus* a **7 días** posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100.
- Evaluar la respuesta tisular, **remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo** (por traumatismo inducido) de *C. porcellus* a **14 días** posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100%.
- Evaluar la respuesta tisular, **remodelamiento en tejido óseo** (por traumatismo inducido) de *C. porcellus* a **28 días** posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100%.

1.5.CARACTERIZACION DEL AREA DE INVESTIGACION

AMBITO GENERAL

El proyecto de investigación se realizará en el departamento de Puno que está ubicado en la parte sureste del territorio peruano entre los 13° 00' y 17° 08' latitud sur y en los 71° 08' y 68° 50' longitud oeste del meridiano de Greenwich.

Presenta los siguientes límites geográficos:

- Por el sur con la región Tacna.
- Por el norte con la región de Madre de dios
- Por el este con la república de Bolivia
- Oeste con las regiones de cusco, Arequipa y Moquegua.

AMBITO ESPECÍFICO

- La investigación se desarrollara en los ambientes pertenecientes a la Universidad Nacional del Altiplano-Puno:
- Laboratorios de biología
- Laboratorio de histopatología de la Facultad de Medicina
- Laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA-PUNO.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACION

Cueva⁵ (2017) el objetivo fue determinar el efecto cicatrizante del ungüento a base de extracto etanólico de las hojas de *Dodonaea viscosa Jacq* en ratones. Materiales y Métodos: Se realizó un estudio tipo experimental, de nivel aplicativo, con siete grupos en total y una muestra de 56 ratones. Resultados: Se observó la variabilidad de las diferencias que existen entre los grupos de control y los tres tratamientos. Conclusión: se determinó que el ungüento del extracto etanólico de *Dodonaea viscosa Jacq*. al 10% presenta actividad cicatrizante en un 75.42%.

Carranza y Huamanchaqui⁶ (2017) El objetivo fue evaluar el efecto cicatrizante *Solanum tuberosum* y membrana testácea de huevo de gallina. Materiales y métodos: se emplearon ratones machos en diversos grupos: uno de control, tres experimentales y uno de comparación, a los que se les practicó una lesión con bisturí en el lomo. Resultados: En las condiciones experimentales realizadas, se demostró que la crema a base de *Solanum tuberosum* posee efecto cicatrizante, además se evidenció que este es mayor con una concentración del 7% de *Solanum tuberosum* más el 3% de membrana testácea de huevo de gallina. Conclusiones: La crema a base *Solanum tuberosum* y membrana testácea de huevo de gallina demostró tener efecto cicatrizante en ratones albinos con lesiones y heridas punzocortantes

Avalos⁷ (2016) el objetivo fue determinar el efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum*, en la inflamación inducida en ratas. Materiales y métodos: se formaron 5 grupos, Grupo control, grupo patrón y 3 grupos expuestos al gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* al 1%, 2% y 4% de 12 especímenes y se indujo inflamación inyectando 1 mL de solución de carragenina al 1% en la zona subplantar de la pata posterior derecha, aplicando posteriormente vía tópica los geles preparados con el extracto etanólico. Resultados: el gel del extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* presentó efecto antiinflamatorio, a las concentraciones de 1%, 2% y 4%, en la inflamación inducida en *Rattus rattus*. Conclusiones: El gel del extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* tiene efecto antiinflamatorio, a las concentraciones de 1%, 2% y 4%, en la inflamación inducida en ratas.

Chinchilla⁸ (2015) el objetivo principal fue determinar el efecto cicatrizante de las hojas de *Cupressu sp*, *Artemisa absithium*, de las partes aéreas del *Thymus vulgaris* y de la corteza de *Byrsonima crassifolia*. Materiales y métodos: se prepararon infusiones acuosas al 10% de cada una de la especies. Para la evaluación cicatrizante se seleccionaron 6 grupos, correspondientes a los diferentes tratamientos, de 3 ratas albinas cada uno, de la misma edad, sexo femenino. Se realizó una lesión en el primer tercio dorsal anterior en un área aproximada de 1 cm². Posteriormente se aplicaron las infusiones de las plantas a estudiar cada 24 horas por 15 días. Resultados: se pudo observar que no hay diferencia significativa entre grupos ($p > 0.05$). A pesar de ello los resultados demuestran que la infusión de las hoja del *Cupressus sp* favorece el proceso de cicatrización en mayor medida. Conclusiones: la actividad cicatrizante de las infusiones de *Cupressus sp*, *Artemisia absithium*, *Thymus vulgaris* y *Byrsonima crassifolia*, puede inferirse que únicamente el *Cupressus sp* favoreció el proceso de cicatrización.

Prado⁹ (2015) El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto cicatrizante de los flavonoides aislados del extracto hidroalcohólico de las flores de *Agave americana*. Materiales y métodos: El efecto cicatrizante se determinó mediante la administración de flavonoides aislados de las flores de *Agave americana* a concentraciones de 0,2; 0,5 y 1%. Resultados: el mayor porcentaje de efecto cicatrizante se observó con la concentración de 0,5%, alcanzando un 67, 1 %. Conclusiones: los flavonoides aislados del extracto hidroalcohólico de las flores de *Agave americana* poseen efecto cicatrizante lo que confirma su uso tradicional y representa una buena alternativa en la curación de heridas.

Gallardo y Barboza¹⁰ (2015) El objetivo del trabajo fue determinar el efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* a diferentes concentraciones (0,5%, 1% y 2%). Materiales y métodos: la investigación fue experimental, transversal y de nivel relacional. Se necesitaron 15 ratones, en los que se empleó el método de test de cicatrización. Los ratones fueron aclimatados y distribuidos al azar en 5 grupos de 3, para realizar las incisiones de 1 cm de longitud con un bisturí y aplicar los respectivos geles. Al octavo día del procedimiento, los ratones fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal. Resultados: se obtuvo mayor efecto cicatrizante con el gel al 2% de látex de *Croton lechleri*. Conclusiones: el gel al 2%

elaborado del látex de *Croton lechleri* pose mejor efecto cicatrizante en comparación a la demás concentraciones.

Gutiérrez y Herrera¹¹ (2015) El objetivo fue evaluar el efecto cicatrizante de *Bidens pilosa* independiente y en asociación a *Lippia nodiflora* sobre heridas incisas en animales de experimentación. Materiales y métodos: se elaboró geles conteniendo 20 y 30% de los extractos de *Bidens pilosa* y de *Lippia nodiflora* aplicando 3 veces al día, por 7 días. Resultados: al hacer el análisis de ANOVA se demostró la eficacia cicatrizante a la concentración del 20% de *Bidens pilosa* y 30 % de *Lippia nodiflora* aun nivel confianza del 0.05, pero comparando estos grupos a un nivel de confianza al 0.05, el gel con la asociación de los extractos al 30%; estos son estadísticamente diferentes al grupo tratado con gel con extracto de *Bidens pilosa* al 20%. Conclusiones: el gel con extracto de *Bidens pilosa* al 20% es el de mayor eficacia.

Albuquerque¹² et al (2014) el objetivo fue evaluar las actividades antimicrobianas, citotóxicas y cicatrizantes del extracto etanólico del tallo de la *Zeyheria tuberculosa* por vía tópica y/o ingestión oral. Materiales y métodos: ensayos in vivo con ratones Wistar. En estos fueron recolectados datos clínicos, histológicos y bioquímicos para evaluación del proceso de cicatrización. Resultados: los animales tratados con las pomadas del extracto de la *Zeyheria tuberculosa* presentaron mejores resultados en la reducción del diámetro de la herida, dato confirmado por la presencia de reepitelización en los cortes histológicos. Conclusiones: el extracto se mostró promisor debido a su mecanismo de acción en el proceso de cicatrización de heridas.

Proaño¹³ (2013) el objetivo fue la comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de *Rosmarinus officinalis*, *Piper aduncum* y *Equisetum arvense* en ratones. Materiales y métodos: la actividad cicatrizante de la crema se evaluó a través de la inducción de una herida en la región escapular de 15 ratones previamente rasurados, de 2 cm de largo por 2 mm de profundidad realizados con bisturí, para la posterior aplicación de tratamientos con la crema de extractos fluidos de *Rosmarinus officinalis*, *Piper aduncum* y *Equisetum arvense*, administrados en vía tópica por 2 aplicaciones al día durante 15 días. Resultados: existe una actividad cicatrizante efectiva en un lapso de 10 días, tardándose 12 días en cerrar la herida completamente. Conclusiones: se comprobó experimentalmente que la crema a base de

los extractos hidroalcohólicos de *Rosmarinus officinalis*, *Piper aduncum* y *Equisetum arvense* tienen actividad cicatrizante.

Ghasemi¹⁴ *et al* (2013) el objetivo de su estudio fue evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico del tallo del *Ephedra pachyclada* para el tratamiento de ulcera gástrica inducida por etanol en ratas. Materiales y métodos: se realizó tratamientos experimentales con extracto hidro-alcohólico de *E. pachyclada* (250, 500 y 1000 mg/ps oralmente), omeprazol como fármaco estándar (20mg/kg) y un grupo control. La ulcera estaba valorado en mm³ y se realizó la examinación histológica. Resultados: posterior al 3, 6, 9 y 12 días después del tratamiento el extracto hidro-alcoholico de *Ephedra pachyclada* produjo el 51%, 71%, 98.9% y 100% de efectos curativos en comparación con el omeprazol que produjo 53%, 79%, 93% y 100% de efectos curativos para mucosa gástrica dañada. El análisis histopatológico indico el extracto hidroalcohólico de *Ephedra pachyclada* fue efectivo en la curación de la ulcera. Conclusiones: *Ephedra pachyclada* acelera la curación de la ulcera en ratas, aquello supone utilizado como medicina popular por la población.

Quiroz¹⁵ (2013) objetivo fue evaluar a nivel histológico el proceso de cicatrización ósea alveolar post exodoncia usando un aloinjerto y un xenoinjerto en *Cavia porcellus*. Materiales y métodos: Se emplearon 45 cobayos como animales de experimentación divididos en tres grupos: Grupo A (aloinjerto), Grupo B (xenoinjerto), Grupo C (control); a los cuales se les realizó la exodoncia de la pieza 41 con la colocación inmediata del injerto correspondiente al grupo de experimentación y la sutura del alveolo. Se realizó una evaluación de las variables de cicatrización alveolar: coágulo sanguíneo, tejido de granulación, matriz provisional, y hueso mineralizado a los 5, 15 y 30 días. Resultados: Al evaluar cada grupo experimental se observaron los mayores valores de las variables de cicatrización alveolar en el tercio apical. Al comparar el aloinjerto con el xenoinjerto según periodos de tiempo y áreas alveolares se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en el tejido de granulación, matriz provisional y hueso mineralizado, encontrando los mayores valores en el grupo con aloinjerto. Conclusiones: El aloinjerto demostró un comportamiento superior como sustituto óseo en la neoformación ósea así como también acelero el proceso de cicatrización alveolar.

Rosales¹⁶ (2011) el objetivo de la investigación fue evaluar la respuesta tisular a nivel histológico a la aplicación de complejos activos a partir de extractos etanólico del

Brassica Rappa Campestri y *Cestrum parqui* L`herit sobre alveolos post exodoncia de cobayos. Materiales y métodos: la investigación es de tipo experimental y prospectivo, estando la muestra conformada por 24 cobayos los cuales fueron divididos en 3 grupos, dos grupos experimentales (*Brassica rappa campestris* y *Cestrum parqui* L`herit) y uno de control. Se le realizó una exodoncia de una sola pieza dental y colocando los complejos procesados en los alveolos respectivos. Se obtuvo las muestras al 1er, 3er, 7mo y 21avo día. Resultados: se describe un predominio de una reacción inflamatoria de tipo moderado al 1er, 3er, y 7mo día de experimentación a la administración de *Brassica Rappa Campestri* por la presencia de vasodilatación y vasocongestión moderado. La aplicación de *Cestrum parqui* L`herit es significativa al encontrarse respuesta inflamatoria leve al 1er día de experimentación por presencia de vasodilatación y vasocongestión disminuida, resaltando el hecho de no encontrar respuesta inflamatorias al 3er, 7mo y 21avo día de experimentación, además de presencia de fibroblastos y angiogénesis, tejido colágeno denso y angiogénesis. Conclusiones: la aplicación de los complejos activos del *Cestrum parqui* L`herit muestran una respuesta inflamatoria y tisular superior sobre alveolos post exodoncia en cobayos. Los principios activos a base de Nabo silvestre *Brassica Rappa Campestris* mostraron menor grado actividad en cuanto a la respuesta inflamatoria.

Lacolla¹⁷ et al (2011) El objetivo fue evaluar la acción de extracto de *Cichorium intybus* sobre componentes celulares y tisulares en heridas cutáneas de ratones blanco. Materiales y métodos: Para ello se han lesionado ratones y se han tratado tópicamente durante 10 días con extractos diluidos de la especie nombrada obteniéndose muestras diarias para realizar estudios histológicos. En forma paralela y para poder comparar la evolución de las heridas se procedió en forma similar con ratones que no fueron tratados. Resultado: Los ratones del grupo tratado mostraron retardo en el proceso de curación de la herida evidenciado por una significativa mayor permanencia de los neutrófilos y el retraso de la aparición de los fibroblastos en la zona lesionada ($p < 0.05$). Conclusiones: el *Cichorium intybus* no presenta actividad cicatrizante a la dosis ensayada, y bajo las condiciones de este estudio.

Mancebo¹⁸ et al (2011) el objetivos fue evaluar la actividad cicatrizante de la pasta de clorofila-caroteno de *Pinus caribaea* en un modelo de heridas abiertas en ratas. Materiales y métodos: se utilizaron 16 ratas Wistar de los 2 sexos, en 4 grupos de 4

ratas cada uno, a las cuales se les provocó heridas. En el grupo control se realizó la administración tópica de vehículo (agua estéril), y en los 3 restantes, pasta de clorofila-caroteno, CIKRON y gel de R. mangle, diariamente durante 11 días. Se procedió a la medición del área de las heridas en el día inicial, a los 8 y 11 días; además, se sacrificaron al final del experimento, con el estudio histopatológico de la piel. Resultados: se comprobó el efecto cicatrizante de la pasta de clorofila-caroteno, al disminuir el área de las heridas de manera significativa respecto al resto de los grupos en los días 8 y 11. El estudio histológico se caracterizó por presentar un porcentaje de heridas en la fase II de cicatrización de la epidermis y dermis en todos los grupos, el grupo tratado con pasta de clorofila-caroteno mostró la mayor proporción de parámetros histológicos en la fase I y II de cicatrización respecto al resto de los grupos. Conclusiones: se demostró el efecto favorable de la pasta de clorofila-caroteno obtenida de las acículas del *Pinus caribaea* en el proceso de curación de heridas abiertas.

Juro¹⁹ *et al* (2010) El objetivo fue determinar el efecto cicatrizante de extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica Diels* en ratones albinos. Material y métodos: se usaron hojas recolectadas en la localidad de Urubamba. Se realizaron cortes de 1 cm² en el área dorsal escapular de ratones, a quienes se les aplicó el extracto a diferentes concentraciones (2.5%-40%), durante 21 días, luego de lo cual fueron sacrificados. Resultados: la concentración mínima efectiva cicatrizante fue de 5%, encontrándose una relación concentración-cicatrización en el rango de 2.5% a 30% y una relación formulación-cicatrización. Los resultados fueron corroborados con el estudio histológico. Conclusión: tanto el extracto hidroalcohólico al 5% como las formas farmacéuticas de emulsión O/A e hidrogel presentando muy buena actividad cicatrizante.

Duran y Sotelo²⁰ (2010) el objetivo de su investigación fue comparar la respuesta tisular a nivel histopatológico al uso de apósitos de *Erythroxyllum coca Lam* con *Uncaria tomentosa (willd)* en os alveolos post exodoncia en *Cavia porcellus*. Materiales y métodos: se realizó un estudio tipo experimental y prospectivo, la muestra estuvo conformada por 36 *Cavia porcellus* de 4 meses de edad y de 500 gramos de peso, los cuales fueron divididos en 3 grupos, dos experimentales (*Erythroxyllum coca Lam* y *Uncaria tomentosa*) y un grupo control, practicándoles las exodoncias y colocando apósitos respectivamente en los alveolos. Obteniéndose muestras al 1er , 3er, 10mo y

21avo día. Resultados: el *Erythroxyllum coca Lam* tuvo mayor reacción antiinflamatoria, presentando inflamación aguda leve al 21avo día, en comparación con la *Uncaria tomentosa (Willd)* que tuvo mejor reparación, presentando regeneración al 10mo día. Al 21avo día se encontró diferencias estadísticamente significativas ($P=0,07$). Conclusiones: a nivel histopatológico al uso de los apósitos de *Erythroxyllum coca Lam* y *Uncaria Tomentosa* tuvo mejor respuesta titular en comparación al grupo control al 10mo día y 21avo día. El *Erythroxyllum coca Lam* indujo una reacción inflamatoria aguda leve al 21avo día, en comparación con *Uncaria tomentosa (Willd)* que presento reparación tisular.

Arriola y Sacsquispe²¹ (2010) en objetivo fue evaluar el efecto antiinflamatorio de la *E. americana HyB* en cirugía gingival en cobayos. Materiales y métodos: Estudio experimental en 32 cobayos: 16 cobayos a los que se les aplicó el extracto etanólico de la planta (grupo experimental) y 16 el grupo control. Se les realizó incisión tipo media luna en la encía inferior, con desprendimiento del colgajo y se suturó; luego se obtuvieron biopsias excisionales a las 48 horas y a los 7 días para evaluación histopatológica del proceso inflamatorio. Resultados: Al comparar el proceso inflamatorio en ambos grupos a las 48 horas hubo diferencia significativa, siendo menos intenso en el grupo experimental. A los 7 días de evaluación, la inflamación fue menor en el grupo experimental y en algunos casos hubo reparación final. La evolución del proceso inflamatorio para ambos grupos, mostró diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$); sin embargo, fue mejor en el grupo experimental. Conclusiones: La aplicación de *E. americana HyB* en la encía de cobayos expuesta al procedimiento quirúrgico, reduce el grado de inflamación y facilita el proceso de la reparación.

Vadillo²² (2009) el objetivo fue determinar la respuesta tisular de alveolos post exodoncia en incisivos de *Cavia porcellus* después de la aplicación intra-alveolar de *Aloe vera* y *Croton lechleri* en diferentes grupos. Materiales y métodos: la muestra estuvo conformada por 48 modelos biológicos experimentales los cuales se dividieron en 3 grupos: 2 grupos experimentales y un grupo control de 16 animales de experimentación cada uno. La evolución de la respuesta tisular se evaluó en periodos de 24 horas, 7,21 y 28 días en cada grupo. Resultados: fueron variados en cada periodo de los cuales se podría concluir que presenta un efecto beneficioso pero no estadísticamente significativo comprobándose su utilidad para la cicatrización en este

tipo de herida tan característica en el campo de la odontología. Conclusiones: La respuesta tisular en los alveolos post exodoncia fue favorecida por los rellenos de *Aloe vera* y *Croton leichleri*, con respecto al control, sin embargo no se encontró asociación estadística.

Flores²³ (2006) el objetivo fue evaluar el efecto clínico y resultados histológicos de la aplicación de Uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en alveolos post exodoncia de molares en cobayos. Materiales y métodos: la investigación fue de tipo experimental, prospectivo y longitudinal. La población estuvo conformada por 20 cobayos clase I, de 4 meses de edad, 500 gramos los cuales fueron divididos en dos grupos (control, y experimental). Se les practico exodoncia respectiva y colocando *U. tomentosa* en forma líquida en el alveolo, luego observando clínicamente los cambios en el alveolo y tejidos adyacentes a los 1, 3, 7 y 21 días y posteriormente realizar el estudio histopatológico. Resultados: en la reacción inflamatoria no existe diferencia de reacciones en el grupo control en los 3 primeros días, pero si en el experimental. Comparando la reacción de reparación y curación, el grupo control tiene una menor reparación respecto al experimental, que es mayor en los primeros días, empero existe igualdad de reacciones en los últimos días. El análisis ANOVA nos muestra una diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$) de la reacción inflamatoria, reparación. Conclusiones: se obtuvo un favorable efecto clínico y reparativo y respuesta histológica de la aplicación de la *U. tomentosa*.

Bonilla y Pareja⁴ (2001) el objetivo fue evaluar la acción biológica de flavonoides de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) sobre el sistema inmunológico. Materiales y métodos: se realizó un estudio fitoquímico y de la actividad biológica de la parte aérea de *E. americana*. Con la muestra en polvo se realizó la mancha fitoquímica, determinándose la presencia de alcaloides, compuesto fenólicos tipo flavonoides, taninos, glicósidos y otros. Mediante ensayos de solubilidad se observó que los metabolitos eran secundarios eran de mediana y alta polaridad, confirmándose por cromatografía en capa fina. Se procedió a la separación de los compuestos fenólicos por cromatografía en columna rápida, obteniéndose varias fracciones. Estas fueron purificadas mediante cromatografía a escala reparativa utilizando diversos sistemas solventes elucidándose estructuralmente cinco flavonoides de conocida actividad antioxidante denominados: hesperidina; crisina; 3',4',5,7-tetrahidroxi-6,8-di-R flavona;

3',5,7'-trihidroxi-4',6,-dimetil flavonol y 4'-hidroxi-5,7-dimetoxi flavonona.

Resultados: En el extracto etanolico se determinó actividad inmunoestimulante, efecto antioxidante, acción toxica sobre artemia salina, acción antiulcerosa, acción sobre la motilidad intestinal, actividad antiinflamatoria, su toxicidad y actividad antimicrobiana.

Conclusiones: el *Ephedra americana* posee un significativo efecto antiinflamatorio, buena actividad antiulcerosa y que actúa sobre la motilidad intestinal no es toxica y es biológicamente activa.

2.2. MARCO TEORICO

2.2.1. EPHEDRA AMERICANA Humb. et Bompl. ex Willd.

2.2.1.1. DESCRIPCIÓN

Ephedra americana, comúnmente llamado “Pinco-pinco”, es parte de la familia de la *Ephedracea*, perteneciente al orden Gnetales, que comprenden 3 tipos diferentes de género, *Gnetum*, *Ephedra* y *Welwitschia*. El género *Ephedra* tiene 40 especies de arbustos como pequeños árboles y trepadores. Crecen en temperaturas calientes aridos en norte de Africa, Norteamerica y Sudamerica. Crecen en lugares arenosos, desérticos como la sierra y algunas lomas cerca del mar de Perú⁵. *Ephedra americana* crece en abundancia en la sierra en cusco, Arequipa, Puno y Cajamarca^{3, 24-27}. Las *Ephedra* son arbustos erectos o semitrepadores, de 20 a 40 cm de altura, leñoso en la base, hojas inconspicuas dioicos y monoicos, espigas de color verde-plomizo²⁴ exteriormente tienen numerosos canales o surcos, pequeños y longitudinales; ramas equisetoides, solitarias y verticiladas, hojas birnadas o ternadas, usualmente formando una vaina; estróbilo estaminado, compuesto; brácteas verticiladas o ternadas, incluyendo una estructura vasiforme compuesta, en la base del anteroforo sobre el que surgen de pocas a muchas anteras usualmente binoculares, sésiles o cortamente estiptadas; estrofilos con pocos o muchos verticilios de brácteas membranaceas o carnosas, dispuestas binada o ternadamente, que rodean uno o varios ovulos²⁵.

Es usado en medicina alternativa por sus propiedades curativas, la *Ephedra americana* es empleada en el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias y genitourinarias, así como para el tratamiento de fracturas^{4, 26}. Dentro de la medicina alternativa es también usada como antidisentérico, antiinflamatorio, hemostático, diurético, afecciones renales, tratamiento de fracturas, sudorífico, antipirético, sedante para la tos, estimulante respiratorio y como midriático. La *Ephedra* proporciona una importante droga denominada Efedrina⁵, sin embargo la FDA (Food and drugs administration) ha restringido su uso de la efedrina como suplemento dietético en deportistas debido a que ha sido vinculado con problemas cardiacos y nerviosos²⁸.

Estructuras reproductivas:

- Estróbilo microsporangiado: consta de 2 a 8 pares de brácteas opuestas o enveticilios, las brácteas basales son estériles mientras las brácteas distales son fértiles, fusionadas y portan en su axila un esporangioforo central (fusión de microsporofilos), que lleva en su extremo distal un grupo de 2 a 8 microesporangios binoculares. La dehiscencia es poricida y el grano de polen es inaperturado²⁹.
- Estrobilo megasporangiado: consiste en un corto eje que porta en la base 2 a 4 bracteas decusadas, esteriles, mientras que las brácteas distales son fértiles y encierran un par de bractéolas fusionadas que encierran un ovulo con dos tegumentos. Al madurar el ovulo, la parte inferior del tegumento interno se suelda a la nucela, pero la parte superior queda libre y se extiende formando el tubo microcapilar que funciona como el órgano receptivo del palem²⁹.

2.2.1.2. TAXONOMÍA

REYNO	: Plantae
DIVISION	: Spermatophyta
CLASE	: Gnetopsida
ORDEN	: Gnetales
FAMILIA	: Ephedraceae
GENERO	: Ephedra
ESPECIE	: Ephedra americana
NOMBRE COMUN	: Pinco-pinco ³⁰

2.2.1.3. PRINCIPIOS ACTIVOS

- **Alcaloides (derivados de β - feniletamina):** posee (Efedrina, pseudoefedrina y norpseudoefedrina) potentes estimulantes del sistema nervioso central, potencia mayor que la cafeína, pero inferior a las anfetaminas. La efedrina es uno de los principios activos de la Ephedra, actúa potentemente como estimulante del sistema nervioso simpático y de las fibras musculares lisas, similares en su acción a la adrenalina, de donde derivan sus virtudes medicinales además de ser un vasoconstrictor. También posee un efecto broncodilatador, eleva la tensión arterial siendo la *Ephedra* un tratamiento eficaz para el asma, enfisema pulmonar y la crisis de tos¹⁸, también posee cualidades antiinflamatorias³. La efedrina es menos activa que la adrenalina,

fisiológicamente tiene una ventaja de que ejerce una acción más prolongada además es absorbida cuando se toma oralmente y es una sustancia mas estable³¹, se refieren los siguientes alcaloides⁴:

- (1R, 2S)-(-)-Efedrina C₁₀H₁₅NO
- (1S,2S)-(+)-Pseudoefedrina C₁₀H₁₅NO
- (1R,2S)-(-)-N-metil efedrina C₁₁H₁₇NO
- (1S,2S)-(+)-N-metil Pseudoefedrina
- (1R,2S)-(-)- Norefedrina C₉H₁₃NO
- (1S,2S)-(+)-O-Benzoil Pseudoefedrina C₁₇H₁₉NO
- Alcaloides oxazolidinicos
- Otros

Compuestos fenólicos: En el género *Ephedra* se puede encontrar flavonoides con actividad antioxidante: hesperidina; crisina; 3`4`5,7-tetrahidroxi-6,8-di-Rflavona; 3`,5,7`-trihidroxi4`,6-dimetoxi flavonol y 4`hidroxi-5,7-dimexoti flavorona⁴.

- Fenilpropanoides: ácido clorogenico, ácido cafeico, etc
- Flavonoides tipo flavona o flavonol y sus glicosidos: Proantocianida, catequinas, Epicatequinas, epigalocatequinas, galocatequinas, prodelfinidinas, leucopelargonidinas, leucocianidinas, leucodelfinidinas, mahuaninas A,B,C,D
- Flavonoles: ephedranina A
- tyrosinbetaina
- Pseudoefedrina:
- N-metil efedrina

Antibacteriano: *Ephedra americana* posee actividad antimicrobiana frente a⁴:

- *Escherichia coli*
- *Salmonella Cholerae suis serotipo typhymurium*
- *Salmonella Cholerae suis serotipo enteriditis*
- *Streptococcus faecalis*
- *Staphilococcus aureus*
- *Bacilius subtilis*

2.2.2. CAVIA PORCELLUS

2.2.2.1. DESCRIPCIÓN

El cobayo o cuy, (*Cavia porcellus*) es un roedor originario de los andes sudamericanos, de crianza milenaria, donde la mayor población y consumo de cobayos se encuentra en la sierra peruana^{32, 33}.

Tipos de cobayo según su pelaje^{32, 33}.

- Tipo I: es de pelo corto, lacio y pegado al cuerpo. Es el más característico y difundido cuy peruano.
- Tipo II: es de pelo corto y lacio, pero forma rosetas o remolinos.
- Tipo III: su pelo es largo y lacio y puede presentar rosetas.
- Tipo IV: presenta pelo ensortijado. La forma de su cabeza es redondeada y tamaño medio

Tipos de cobayo según su conformación de su cuerpo^{32, 33}.

- Tipo A: son cobayos marcados en paralelepípedo, que implica su alto grado de desarrollo muscular. Tiene cabeza redondeada, cuerpo profundo, orejas grandes y es de temperamento tranquilo.
- Tipo B: su desarrollo muscular es escaso. Su cabeza es triangular, angulosa y alargada, cuerpo profundo, orejas erectas y temperamento nerviosos

2.2.2.2. TAXONOMÍA

REINO	:Animal
PHYLUM	:Vertebrata
SUB-PHYLUM	:Gnathostomata
SUB-CLASE	:Mammalia
INFRA-CLASE	:Theria
ORDEN	:Eutheria
SUB-ORDEN	:Rodentia
FAMILIA	:Caviidae
GENERO	:Cavia
ESPECIE	:Cavia porcellus
NOMBRE COMUN	:Cobayo, cuy ³⁴

2.2.2.3. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA CABEZA Y CUELLO DEL COBAYO

La cabeza del cobayo es relativamente grande en relación a su volumen corporal, de forma cónica y de longitud variable de acuerdo al tipo de animal, las orejas son por lo general caídas. Los ojos son redondos, vivaces de color negro o rojo, con tonalidades de claro a oscuro. El hocico es cónico, con fosas nasales y ollares pequeños, el labio superior es partido, mientras que el inferior es entero³⁵.

Presenta 20 piezas dentarias, incisivos alargado, con curvatura hacia adentro, crecen continuamente. No tiene caninos y sus premolares son amplios. El maxilar inferior tiene las apófisis que se prolonga atrás hasta la altura del axis. Su fórmula dentaria es: I=1/1, C=0/0, PM=1/1, M=3/3. El cuello es grueso, musculoso y bien insertado al cuerpo, conformado por siete vertebras de las cuales el atlas y axis están bien desarrollados³².

2.2.2.4. DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE MUCOSA ORAL Y TEJIDO ÓSEO NORMAL

La cavidad bucal del cobayo está organizada de la siguiente manera

Epidermis: es la capa superficial cubierta por epitelio escamoso estratificado queratinizado, y un tejido conjuntivo adyacente denso y colagenoso, derivado del ectodermo y está compuesto por 5 estratos³⁶.

- Estrato corneo: queratinocitos en múltiples capas de células queratinizadas aplanadas y muertas, células sin núcleo.
- Estrato lucido: capa delgada de queratinocitos sin núcleo ni organelas, contiene los filamentos de queratina.
- Estrato granuloso: tres a cinco capas de espesor, queratinocitos con núcleo.
- Estrato espinoso: es la capa más grueso de la epidermis, los queratinocitos se interdigitan entre sí, tiene actividad mitótica
- Estrato basal (germinativo): capa aislada de células cubicas a cilíndricas bajas, con actividad mitótica, está separada de la capa reticular de la dermis por una membrana basal.

Dermis: presencia de papilas dérmicas, constituido por tejido conjuntivo laxo, fibroblastos macrófagos, células cebadas, hictiocitos, abundante vascularidad, capilares y vénulas. El tejido conjuntivo denso con gran cantidad de fibroblastos sintetizando fibras colágenas, folículos pilosos³⁶.

- Capa papilar: se interdigitan con la dermis y forma el componente de las papilas dérmicas del aparato, reticular, fibras colágenas tipo III, y elásticas en una disposición laxa. Lechos capilares en abundancia.
- Capa reticular: la capa más profunda de la piel, posee fibras colágenas tipo I, fibras elásticas muy gruesas, y células del tejido conjuntivo.

Hipodermis: compuesto por tejido conjuntivo laxo, que contiene cantidades variables de grasa³⁶.

Tejido muscular: integrado por células multinucleadas, largas y que se contaren de manera voluntaria para facilitar el movimiento del cuerpo o sus partes³⁷.

Cartílago

- **Pericondrio:** es una hoja de recubrimiento de tejido conjuntivo que se encuentra en la mayor parte del cartílago³⁶.
- Cartílago hialino: las células mesenquimales se conglomeran y forman los centros de osificación, estas células se diferencian condroblastos y comienzan a secretar una matriz en su alrededor, a medida que sintetizan matriz se van encerrando en espacios denominados lagunas, y cambias de nombre a condrocitos. Posee fibras colágenas tipo II, matriz basófilo³⁸.

Tejido óseo

El hueso está recubierto por el periostio, una capa externa de tejido conjuntivo denso fibroso y una capa interna, con células osteoprogenitoras. Se conforman de dos tipos de tejido, compacto y esponjoso. El tejido óseo compacto se localiza en las porciones externas de todo el hueso y posee una estructura dura que le confiere su rigidez y características de soporte. Posee láminas circunferenciales externas e internas, osteonas y láminas intersticiales, mientras el tejido óseo esponjoso corresponde a la región porosa, que contiene la cavidad medular; está conformada por trabéculas óseas finas y ramificadas entre las cuales se localiza la medula ósea este conformada por tejido hemático o adiposo. No tiene sistemas haversianos³⁸.

2.2.3. PROCESO DE LA REPARACION

La restauración de la integridad del tejido, si fuese iniciado por trauma o cirugía, es esencialmente una respuesta de defensa. El proceso de la reparación depende principalmente del tipo de tejido y la naturaleza del daño tisular. Cuando la restitución ocurre con tejido que es estructural y funcionalmente indistinguible de los tejidos normales, se denomina regeneración, sin embargo si la integridad del tejido es establecido principalmente con la formación de fibrosis del tejido, entonces se denomina cicatrización, con excepción de hueso y el hígado, en donde la ruptura invariablemente la reparación es por medio de la regeneración. El proceso de cicatrización es un complejo y dinámico, con los cambios del medio ambiente de la herida y los cambios de estado de salud del individuo. De acuerdo a investigaciones en heridas de modelos animales, que demostraron que el proceso de cicatrización es en 3 fases: inflamación, proliferación celular (granulación del tejido y epitelización), y remodelamiento³⁹.

2.2.4. RESPUESTA TISULAR DE MUCOSA ORAL

2.2.4.1. REACCIÓN INFLAMATORIA

La inflamación es definida como una respuesta local de los tejidos vivos de mamíferos a injurias de algún agente. Es la reacción de defensa del cuerpo con el fin de eliminar o limitar la diseminación del agente injurioso, seguido de la eliminación de células y tejidos muertos⁴⁰⁻⁴⁵. Las células y moléculas implicadas en la defensa del huésped, incluidos los leucocitos y las proteínas plasmáticas, normalmente circulan en la sangre y el objetivo de la reacción inflamatoria es localizarlos en el foco de infección o daño tisular¹. La fase inflamatoria presagia la respuesta reparativa del cuerpo y usualmente dura 3 a 5 días. Se produce una vasoconstricción de los vasos sanguíneos dañados como una reacción espontánea al sangrado^{1, 40}. Las plaquetas circulantes se agregan rápidamente en el lugar de la injuria y se adhieren uno con otro y al colágeno subendotelial expuesto para formar grupo de plaquetas organizadas en una matriz de fibrina. El coágulo asegura la hemostasia y proporciona ya matriz provisional a través de la células que migran durante el proceso de reparación^{41, 42}. Una vez la hemostasia ha sido establecida, la vasoconstricción es remplazada por persistentes periodos de vasodilatación que son reguladas por la histamina, leucotrienos, cininas. El incremento de la permeabilidad vascular permite al plasma sanguíneo y a otros mediadores de la cicatrización para atravesar por las paredes de los vasos sanguíneos (diapédesis) y se

ubican en el espacio extracelular. Las citosinas liberan dentro de la lesión señales quimiotácticas que secuencialmente reclutan a neutrófilos y monocitos. Los neutrófilos llegan al sitio de la lesión a minutos de ocurrida la lesión y rápidamente se establecen ellos mismos como células predominantes. La actividad de los neutrófilos está acentuada por anticuerpos que infiltran en la herida desde la vasculatura alterada. Sin embargo citosinas pro-inflamatorias liberadas por neutrófilos, incluidos en Factor de necrosis tumoral, y las interleucinas, continúan estimulando la respuesta inflamatoria para extender periodos. El despliegue de monocitos al sitio de la injuria inicia picos al mismo que los neutrófilos declinan. Los monocitos activados, ahora denominados macrófagos continúan con el microdebridamiento iniciado por los neutrófilos. Ellos secretan colagenasas y elastasas para degradar el tejido dañado y fagocitar bacterias y debris celular. Los macrófagos sirven como fuente primaria para los mediadores de la cicatrización, una vez activadas liberan factores de crecimiento y citosinas en sitio de la herida, promoviendo una amplificación y perpetuación de la acción de los mediadores químicos y celulares. Los macrófagos influyen en todas las fases desde una temprana de cicatrización por regulación del tejido local remodelado por enzimas proteolíticas, induciendo la formación de nueva matriz extracelular, regulando la angiogénesis y fibroplasia hasta la producción local de citosinas como la trombospondin-1 y IL-1b. En la centralización de los macrófagos para la cicatrización temprana, ellos continúan modulando el proceso de la cicatrización hasta que la reparación este completa^{1, 39-45}.

Inflamación aguda: La respuesta inflamatoria a es un proceso que permite la llegada rápida de leucocitos y proteínas plasmáticas al lugar de la lesión. Los leucocitos eliminan los invasores e inician el proceso de la digestión para liberarse de los tejidos necróticos. Los leucocitos son reclutados de la sangre hacia el tejido extravascular, donde se encuentran con el agente infeccioso o tejidos lesionados. Este reclutamiento es mediado por integrinas^{1, 39-45}.

Inflamación crónica: Ocurre la inflamación crónica cuando es prolongada (semanas y años) y en ella la inflamación es mantenida, la lesión tisular y cicatrización ocurren de manera simultánea. Se caracteriza por la presencia de cambios vasculares, edema, y predominio de infiltrado inflamatorio^{1, 39-45}.

2.2.4.2. FASE PROLIFERATIVA

Granulación de tejido: Las citosinas y los factores de crecimiento secretos durante la fase inflamatoria, estimula la fase proliferativa. El inicio es al tercer día después de la injuria y dura hasta las 3 semanas, la fase proliferativa se distingue por la formación de tejido granular rosado (tejido de granulación) contiene células inflamatorias, fibroblastos y vasculatura en comienzos, en una matriz suelta. El primer paso esencial es el establecimiento de una microcirculación local para administrar oxígeno y nutrientes necesarios para el elevado metabolismo de la reparación de tejidos. La generación de nuevos capilares, vasos sanguíneos (angiogénesis) de la vasculatura dañada es impulsado por la hipoxia, factor de crecimiento de fibroblastos y el factor de necrosis tumoral. Al mismo tiempo, los fibroblastos migran hacia la herida en respuesta a las citosinas y el factor de crecimiento liberados por las células inflamatorias y el tejido herido. Los fibroblastos inician la síntesis de nueva matriz extracelular y colágeno inmaduro (tipo III). El nuevo andamio de fibras de colágeno sirve como apoyo para los nuevos vasos sanguíneos para el suministro de la herida. Los fibroblastos estimulados también secretan un rango de factores de crecimiento, de este modo producen un circuito de retroalimentación y mantenimiento del proceso de reparación. La deposición de colágeno incrementa rápidamente la fuerza de tensión de la herida y disminuye la dependencia de material de cierre para mantener unido los bordes de la herida. Una vez adecuado el colágeno y matriz extracelular sea generada, la síntesis de matriz se disipa, evidenciando una muy precisa espacial y temporal regulación de cicatrización normal¹
39-45.

Epitelización: En la superficie de la herida, se forma nuevo epitelio para sellar las áreas desnudas de la superficie de la herida. Las células epidérmicas originadas del margen de la herida se someten a una proliferación y comienzan a resurgir debajo de la membrana basal. El proceso de reepitelización progresa más rápido en la mucosa oral en contraste con la piel. En la mucosa oral las células epiteliales migran directamente en superficie húmeda expuesta de coagulo de fibrina en lugar de un exudado seco (costra) de la dermis. Una vez el epitelio entra en contacto con los bordes se detiene más lateral la proliferación. La reepitelización es facilitada por tejido conectivo contráctil subyacente, que se reduce en tamaño para dibujar los márgenes de la herida hacia cada lado. La contracción de la herida se conduce por la proporción de fibroblastos que se transforman en miofibroblastos y generan fuerzas contráctiles fuertes. El grado de la

contracción de la herida depende de la profundidad de la herida y su localización. En algunas instancias, las fuerzas de contractura de la herida es capaz de deformar estructuras óseas ^{1, 39-45}.

2.2.4.3. FASE DE REMODELAMIENTO

La fase proliferativa es progresivamente reemplazada por un extenso periodo de remodelamiento y fortalecimiento del tejido cicatrizado inmaduro. La fase de remodelamiento o maduración puede durar muchos años e involucra el equilibrio entre la degradación de la matriz y su formación. Como la demanda metabólica de la cicatrización disminuye, la rica red de capilares empieza a retroceder. Bajo la dirección general de las citosinas y factores de crecimiento, la matriz de colágeno es continuamente degradado, resintetizado, reorganizado y estabilizado por reticulación molecular de la cicatriz. Los fibroblastos empiezan a desaparecer y el colágeno tipo III depositado durante la fase de granulación es reemplazada por colágeno tipo I (mas fuerte) correspondientemente la fuerza de tensión del tejido de la cicatriz gradualmente incrementa y eventualmente enfoca cerca del 80% de la fuerza de tensión original. La homeostasis de los colágenos de la cicatriz y la matriz extracelular es regulada en gran medida por serinas proteasas y metaloproteinas de la matriz (MMPs) bajo el control de citosinas reguladoras. Inhibidores de tejido de la MMPs actúan como un contrapeso y proporcionan un control apretado de actividad proteolítica en la cicatriz. Alguna interrupción en este ordenado balance puede permitir el exceso o inadecuado degradación de la matriz y resulta en una exuberante cicatriz o dehiscencia de la herida. Es proceso de remodelado es el resultado final del proceso de reparación, un equilibrio entre síntesis y degradación de proteínas de la matriz extracelular ^{1, 39-45}.

2.2.5. RESPUESTA TISULAR DE TEJIDO OSEO

El proceso de cicatrización de hueso después de una fractura tiene similares características a la reparación de la piel, exceptuando que involucra calcificación de la matriz del tejido conectivo. El hueso es un tejido biológicamente privilegiado dado que su reparación es por regeneración. El hueso fracturado tiene la capacidad de restaurarse

a sí mismo de manera espontánea a través de una formación tisular secuencial y diferenciación³⁹.

2.2.5.1. FASE INFLAMATORIA

Como en la piel el trombo interfragmentario que forma poco después de la lesión y provoca sangrado por la ruptura de vasos en el canal haversiano, medula y periostio. El material necrótico en el sitio de la fractura, provoca una inmediata e intensa respuesta inflamatoria aguda el cual atrae a los leucocitos polimorfonucleares y subsecuentemente a los macrófagos en el sitio de la fractura. El hematoma formado sirve como andamio de fibrina sobre el cual células reparativas pueden migrar y realizar su función. La invasión de células inflamatorias y subsiguiente células mesenquimatosas pluripotenciales que inician con la producción rápida de un callo blando en la fractura que sella la brecha interfragmentaria^{39, 43}.

2.2.5.2. FASE PROLIFERATIVA Y FORMACION DE CALLO

El callo compuesto por tejido fibroso, cartílago y fibras de hueso inmaduro actúa como división por la unión del segmento óseo dañado y el movimiento interfragmentario. En orden de la proliferación de tejido diferenciado y eventualmente maduración, permite a la fractura la consolidación y restauración de la continuidad del hueso. El crecimiento interno de células mesenquimales y vasos sanguíneos inicia poco después, y activa los osteoblastos a la síntesis de tejido osteoide en la superficie del final del fragmento. Las zonas en contacto donde la fractura termina es sellada concéntricamente por hueso lamelar, la brechas más grande esta sellada a través de una sucesión de tejido fibroso, fibrocartílago, y tejido óseo. Subsecuentemente el hueso remodelado eventualmente restaura la forma original e interna de la arquitectura del hueso fracturado^{39, 43}.

2.2.5.3. FASE DE REMODELAMIENTO

El remodelamiento funcional del hueso primitivo es llevado por un equipo temporal yuxtapuesto de osteoclastos y osteoblastos denominados “unidad básica multicelular”. Los osteoblastos se desarrollan del vástago de células mesenquimatosas pluripotenciales, mientras que los osteoclastos nacen del linaje monocito-macrófago. Los osteoclastos excavan el hueso a través de la digestión proteolítica, activa a los

osteoblastos a mudarse, secretando capas de osteoide y rellenar lentamente la cavidad. El osteoide empieza a mineralizar cuando este esté alrededor de 6 μm de grosor. Los osteoclastos alcanzan el fin de su vida de dos semanas mueren y son eliminados por fagocitos. La mayoría también muere en 3 meses y permanece enterrado dentro de la matriz mineralizada como osteocitos. El grano de nuevo hueso inicia una compresión local paralela y tensión. Consecuentemente la forma y la fuerza del hueso reparado cambian para acomodar mayor carga funcional. El grado de tensión del tejido produce una carga funcional, que juega un rol importante en el remodelamiento del hueso regenerado. Sin embargo bajos niveles de tensión están considerados fisiológicamente necesarios para células diferenciadas y remodelación del callo. Niveles superior de tensión empiezan como un efecto adversos en la diferenciación osteoblastica y formación de matriz ósea. Si hay un exceso de movimiento interfragmentario, el hueso regenera principalmente por osificación endocondral o la formación de un callo cartilagosos que es gradualmente reemplazado por hueso. En contraste con la reparación ósea a través de la estabilización de segmentos fraccionados ocurre principalmente una osificación intramembranosa. Aunque la unión ósea sea últimamente lograda a través de cicatrización secundaria por producción de callo y osificación endocondral, la regeneracion es prolongada.^{39, 45-47}.

2.3. HIPOTESIS

- H_i : La respuesta tisular en mucosa oral y tejido óseo (por traumatismo inducido) de cobayos (*Cavia porcellus*) es favorable a los 28 días posterior a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*).
- H_0 : La respuesta tisular en mucosa oral y tejido óseo (por traumatismo inducido) de cobayos (*Cavia porcellus*) **no** es favorable a los 28 días posterior a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. NIVEL DE INVESTIGACION

La presente investigación es clasificada dentro del nivel de investigación APLICATIVO debido a que tuvo por objetivo principal la evaluación de la respuesta tisular en mucosa oral y tejido óseo de cobayos (*Cavia porcellus*) posterior a la aplicación de extracto de pinco-pinco (*Ephedra americana*), Puno 2017.

3.2. TIPO DE INVESTIGACION

- Según la intervención del investigador: EXPERIMENTAL *in vivo*
- Según la planificación de la toma de datos: PROSPECTIVO
- Según el número de ocasiones en que se mide la variable: LONGITUDINAL
- Según el número de variables: ANALÍTICO

3.3. POBLACION Y MUESTRA

POBLACION

Cobayos (*Cavia porcellus*) proporcionados y estandarizados Estación Experimental Zonal Illpa Puno - INIA, Instituto Nacional de Innovación Agraria (ANEXO J).

MUESTRA

16 cobayos (*Cavia porcellus*) con peso de 500 gramos y 4 meses de edad aproximadamente, distribuidos en 4 grupos control y 4 grupos experimentales, resaltando que la distribución de los grupos control y experimental fue en el mismo cobayo, y que su clasificación fue por los cuadrantes:

Grupo control: cuadrante superior derecho (primer cuadrante).

Grupo experimental:

- Cuadrante inferior derecho (Cuarto cuadrante) para la concentración de 50%.
- Cuadrante superior izquierdo (Segundo cuadrante) para la concentración de 75%.
- Cuadrante inferior izquierdo (tercer cuadrante) para para la concentración de 100%.

3.4. CRITERIOS DE INCLUSION

- Cobayo en aparente buen estado de salud.
- Cobayo clase I (según su pelaje).
- Cobayo tipo A (según su conformación).
- Cobayo con edad aproximada de 4 meses.
- Cobayo cuyo peso promedio oscile 500gr.
- Cobayo macho.

3.5. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Cobayo enfermos
- Cobayo hembras
- Cobayo con distinta clasificación a Clase I y tipo A.
- Cobayo de edad considerable mayor o menor a los 4 meses.

3.6. TAMAÑOS DE LA MUESTRA

GRUPO CONTROL

- **Grupo control (GCA):** conformada por los primeros cuadrantes de 4 cobayos para observación histopatológica a **1 día** después de la cirugía bucal. Grupo Control el alveolo del cuadrante superior derecho.
- **Grupo control (GCB):** conformada por los primeros cuadrantes 4 cobayos para observación histopatológica a los **7 días** después de la cirugía bucal. Grupo Control el alveolo del cuadrante superior derecho.
- **Grupo control (GCC):** conformada por los primeros cuadrantes 4 cobayos para observación histopatológica a los **14 días** después de la cirugía bucal.
- **Grupo control (GCD):** conformada por los primeros cuadrantes 4 cobayos para observación histopatológica a los **28 días** después de la cirugía bucal.

GRUPO EXPERIMENTAL

- **Grupo experimental (GEA):** conformado por los cuadrantes restantes (cuarto, segundo y tercer cuadrante) de 4 cobayos para observación histopatológica a **1 día** con la utilización de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100%.

- **Grupo experimental (GEB):** conformado por los cuadrantes restantes (cuarto, segundo y tercer cuadrante) 4 cobayos para observación histopatológica a los **7 días** con la utilización de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100%.
- **Grupo experimental (GEC):** conformado por los cuadrantes restantes (cuarto, segundo y tercer cuadrante) 4 cobayos para observación histopatológica a los **14 días** con la utilización de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100%.
- **Grupo experimental (GED):** conformado por los cuadrantes restantes (cuarto, segundo y tercer cuadrante) 4 cobayos para observación histopatológica a los **28 días** con la utilización de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100%.

3.7. TECNICA

La técnica de recolección de datos fue por medio de la observación (técnica de campo) dado que se evaluó la respuesta tisular a la aplicación de extracto de *E. americana* en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.

3.8. INSTRUMENTOS

Documental: El instrumento documental fue la ficha de observación (Anexo C y D).

Validación de instrumento y metodología: mediante la ejecución de la prueba piloto con el 10% de la muestra establecida, se realizó una evaluación a 1 y 7 días, en el cual se determinó las modificaciones necesarias en la operacionalización de variables y reprogramación del cronograma. (ANEXO B)

3.9. PROCEDIMIENTO

Obtención del extracto:

El extracto se obtuvo por arrastre al vapor⁴⁸, de *E. americana* con características físicas: es incoloro, de aspecto líquido, con olor particular a la *E. americana*, con pH 3.63. El procesamiento y producción se realizó en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. Este mismo fue envasado en frascos color ámbar en concentraciones de 50, 75 y 100% siendo solvente agua destilada, cuyo análisis se cita en el Anexo I.

Fase quirúrgica y aplicación de extracto:

Cirugía bucal:

- Se realizó la esterilización a calor seco (180°C por 60 minutos) del instrumental a utilizar, preparación del modelo biológico experimental (C. porcellus) y de operador (tesista).
- El C. porcellus fue sedado con Acepromacina (sedante perteneciente al grupo de las fenotiacinas, que provoca depresión del SNC, relajación muscular y reduce la actividad espontánea del paciente) 0.1 ml/Kg de peso⁴⁹, cuyo acto pre-operatorio fue ejecutado por un Médico veterinario.
- Se procedió con la aplicación de antiséptico (yodopovidona), anestesia regional de lidocaína 2% sin vasoconstrictor⁵⁰.
- Se realizó la incisión con bisturí N°15 en la zona edéntula comprendida entre los incisivos y el premolar, posterior a ello se realizó el levantamiento de colgajo semilunar⁵⁰.
- Con el uso del micromotor el contraángulo y fresas de carburo-tungsteno e irrigación constante con Cloruro de Sodio (ClNa a concentración 0.9%) se realizó la osteotomía con el objetivo de conformar una cavidad en el tejido óseo de 1mm de profundidad en la cual se diferencia tejido óseo compacto y esponjoso. En cada uno de los cuadrantes, en maxilar los cuadrantes superior derecho e izquierdo, mientras en mandíbula en cuadrante inferior derecho e izquierdo.

Grupo control: cuadrante superior derecho (primer cuadrante).

Grupo experimental: Aplicación de 0.2 mL de extracto de E. americana

- Cuadrante inferior derecho (Cuarto cuadrante) para la concentración de 50%.
 - Cuadrante superior izquierdo (Segundo cuadrante) para la concentración de 75%.
 - Cuadrante inferior izquierdo (tercer cuadrante) para para la concentración de 100%.
- Colocación de sutura simple con seda negra 3/000.

Considerando el tiempo programado (1, 7 14 y 28 días) se conservó los cobayos en un bioterio, cuya dieta estaba basada en forraje verde, el cual le provee el requerimiento nutricional necesario.

Fase de sacrificio de modelos experimental biológico y obtención de muestra

Obtención de las muestras: dentro de una campana de vidrio, se procedió a inducir el sacrificio del *C. porcellus* por inhalación de cloroformo (4 minutos), consiguiéndose así una depresión medular y paro respiratorio. Se realizó la disección de la cabeza del espécimen.

Fase de procesamiento de la muestra:

Para el estudio histológico, se aplicó técnicas de preparación, de tal manera que las muestras se asemejen a su estado natural en vivo evitando su modificación por los efectos cadavéricos post-mortem, por lo cual se utilizó la técnica de coloración hematoxilina-eosina³⁶.

3.10. VARIABLES

- Variable independiente. extracto de *Ephedra americana*
- Variable dependiente: Respuesta tisular de mucosa oral y tejido óseo
- Variable interviniente: tiempo transcurrido la aplicación del extracto (1, 7, 14 y 28 días)

3.11. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

El proyecto de investigación incluyo dentro de la ficha de observación, indicadores y sub-indicadores que fueron inadecuados para la toma de datos, razón por el cual se modificó en los procesos fisiológicos de reparación en tejido óseo, y se propone como nueva de operacionalización de variables al cuadro siguiente:

Cuadro 1. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION	DIMENSION	INDICADOR	SUBINDICADOR	ESCALA	
Variable independiente: <i>Ephedra americana</i>	Planta típica de la sierra central del Perú, perteneciente a la Familia Ephedraceae.	Aplicación en mucosa oral y tejido óseo.	Extracto por arrastre de vapor	Nivel de concentración del extracto de <i>E. americana</i>	0.2 mL al 50%	
				50%	0.2 mL al 75%	
				75% 100%	0.2 mL al 100%	
Variable dependiente: Respuesta tisular de mucosa oral	Reacción del tejido celular (mucosa oral) a consecuencia a la aplicación del extracto	Reacción inflamatoria	Aguda	Presencia de LPMN	Ausente(0) Escaso/leve (1-4) Moderado(5,6) Abundante/severo(7-10) (escala categorica ^{22, 51})	
				Migración leucocitaria		
				Cambios vasculares		
				Hemorragia		
		crónica	Presencia de linfocitos, macrófagos, y células plasmáticas	Congestión		
				Granulación de tejidos	Síntesis de colágeno	Proliferación de fibroblastos
						Síntesis y organización de fibras colágenas
		Epitelizacion	Proliferación celular	Angiogénesis		
				Proliferación y migración de células epiteliales		
				Remodelamiento		Vascularización
Fibrosis						
Queratosis						
Cicatrización						

Variable dependiente: Respuesta tisular de tejido óseo	Reacción del tejido celular (tejido óseo) a consecuencia a la aplicación del extracto	Reacción inflamatoria	Inflamación aguda	LPMN	Ausente(0) Escaso/leve (1-4) Moderado(5,6) Abundante/severo(7-10) (escala categorica ^{22, 51})	
				Migración leucocitaria		
				Cambios vasculares		
			Hemorragia			
		Inflamación crónica	Presencia de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas			
			Congestión			
		Proliferación celular		Proliferación de osteoblastos y osteoclastos		
		Formación de callo		Diferenciación de osteoclastos, osteoblastos y condroblastos		
		Remodelamiento		Formación de tejido osteoide		
				Vascularización		
Fibrosis						
Queratosis						
Regeneración						
Variable interviniente: tiempo	Periodo transcurrido la aplicación del extracto de <i>Ephedra americana</i>	Días	Tiempo trascurrido la aplicación	1 días 7 días 14 días 28 días		

3.12. RECURSOS

Recursos institucionales

- Bioterio
- Laboratorio de Facultad de Medicina Humana UNA-PUNO.
- Laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas UNA-PUNO.
- Laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA-PUNO.

Recursos humanos

- Médico veterinario
- Médico especialista en Anatomía patológica
- Licenciado en biología
- Tesista

Recursos biológicos

- Cobayos clase I (según su pelaje), Cobayos tipo A (según su conformación)
- Pinco-pinco (*Ephedra americana*)
- Recursos tecnológicos
- Microscopio óptico
- Micrótopo
- Estufa
- Esterilizador
- Cámara fotográfica

Recursos químicos

- Acepromacina
- Formaldehido 10%
- Alcohol absoluto 100%
- Alcohol etílico 96%
- Alcohol etílico 70%
- Alcohol acido
- Coloración Hematoxilina de Harris
- Coloración eosina
- Agua destilada
- Xilol
- Parafina
- Cloroformo
- Ácido clorhídrico
- Recursos quirurgicos
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Sindesmotomo
- Mango de bisturí
- Bisturí N°15
- Periostotomo
- Fresas quirúrgicas cilíndricas
- Espejos bucales

- Anestesia tópica

Software

- Microsoft Word
- Microsoft Excel
- Corel draw on line
- InfoStat

3.13. CONSIDERACIONES ETICAS

Sanchez⁵² hace referencia que el empleo de animales en la investigación involucra responsabilidad de quienes lo utilizan, por lo que se debe evitar la crueldad y procurar su bienestar. El animal de estudio debe satisfacer ampliamente los objetivos y requerimientos para su experimentación así como los procedimientos deben ser compatibles con los propósitos de estudio, causar un impacto ambiental mínimo. Es de vital importancia aplicar la ética al uso de animales para el bienestar humano, y evitar un uso inadecuado de él. La presente investigación cumple con los acuerdos tomados por el Concejo Internacional de Ciencias Médicas, en cuanto a los principios éticos universales aplicables a cualquier investigación en la que se usan animales, tales principios son:

- Realizar experimentación en animales siempre de estudiar su relevancia para la salud y animal.
- Seleccionar animales de especie y calidad apropiadas. Usar el mínimo de especies requeridas para la validez de los resultados.
- Tratar animales con respeto y considerando siempre cuidado y uso adecuado.
- Presumir que los procedimientos dolorosos para el hombre son también dolorosos a los animales.
- Aquellos procedimientos que puedan causar dolor o angustia deben ser realizados con analgesia, sedación o anestesia.
- Al final de la experimentación, aquellos animales que hayan sufrido dolor crónico o severo, invalides y que no puedan ser aliviados, tendrán que ser sacrificados sin dolor mediante el procedimiento de eutanasia.

3.14. DISEÑO Y ANALISIS ESTADISTICO

EL análisis y procesamiento estadístico de los datos obtenidos del presente estudio, en relación con los objetivos y la hipótesis de estudio se aplicó los siguientes análisis estadísticos.

- La prueba de t de student:
- Análisis de varianza
- Prueba de rangos múltiples de Tukey

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Tabla 1. Respuesta tisular (reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.

Variable	Sub-indicador	50%	75%	100%	Control
		\bar{x}_1	\bar{x}_2	\bar{x}_3	\bar{x}_4
Mucosa oral	LPMN en mucosa oral.	8,50	7,50	5,75	8,75
	Migración leucocitaria en mucosa oral.	5,75	5,50	5,50	8,75
	Cambios vasculares en mucosa oral.	5,50	8,25	8,50	5,75
	Hemorragia en mucosa oral.	8,50	5,50	5,25	8,75
	Presencia de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas en mucosa oral.	5,50	3,00	2,75	5,75
	Congestión en mucosa oral.	0,00	0,00	0,00	0,00
Tejido óseo	LPMN en tejido óseo.	8,75	8,50	8,25	8,75
	Migración leucocitaria en tejido óseo.	8,00	5,75	5,50	8,75
	Cambios vasculares en tejido óseo.	1,25	2,25	2,25	0,25
	Hemorragia en tejido óseo.	8,25	5,50	5,50	8,75
	Presencia de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas tejido óseo.	2,75	2,50	2,50	5,25
	Congestión en tejido óseo.	5,75	5,50	5,50	8,75

FUENTE: base de datos

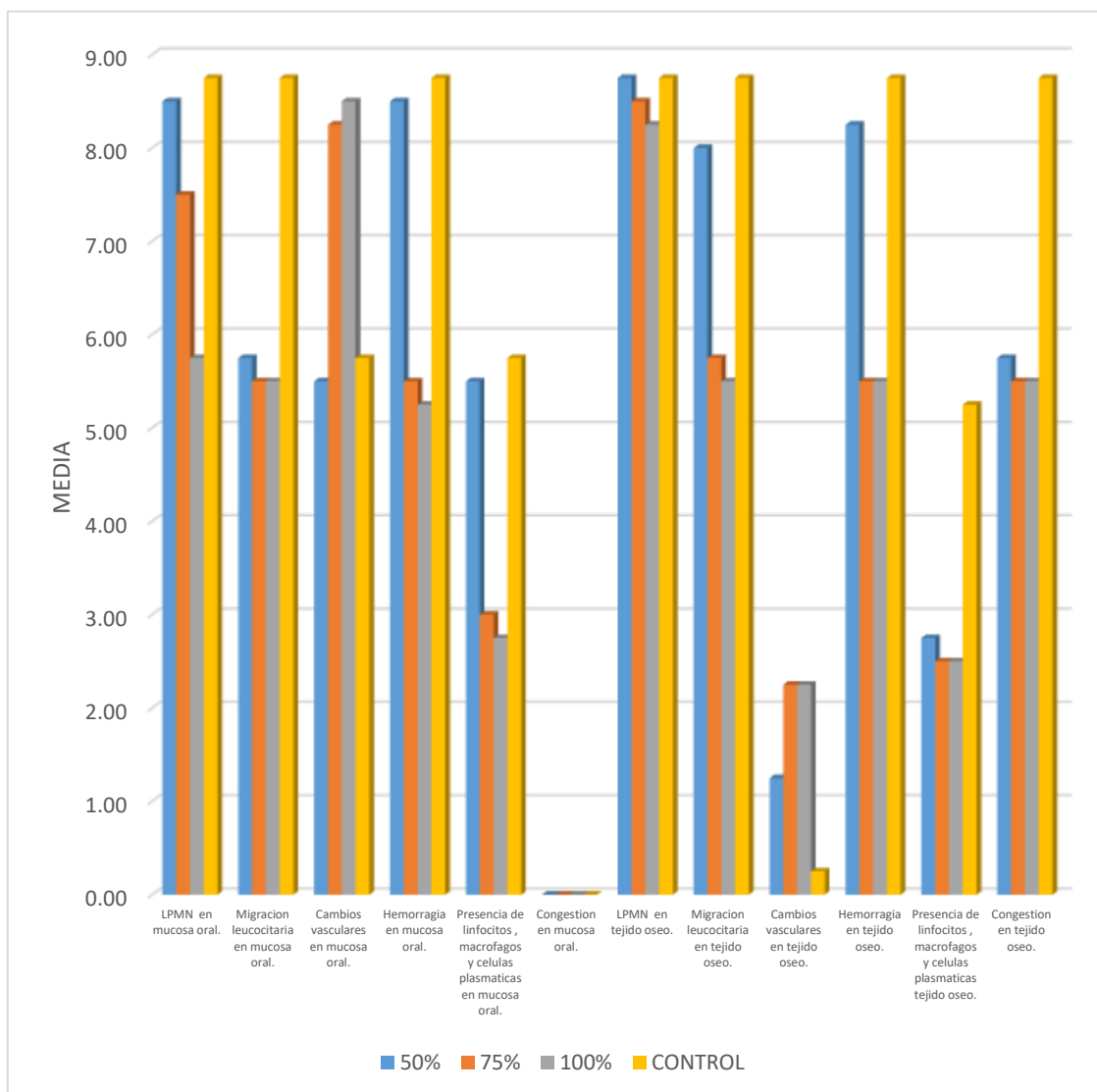
*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

INTERPRETACION: Los resultados del análisis de datos muestran que en **mucosa oral** existe una significancia estadística ($p < 0.05$) entre el grupo control con los tratamientos

de *Ephedra americana* posterior a **1 día** en el proceso inflamatorio agudo, de un traumatismo inducido a la mucosa oral de los modelos biológicos experimentales. El tratamiento a concentración de 100% muestra una cantidad moderada de Leucocitos polimorfo nucleares. Las concentraciones de 75% y 100%, estimula a la migración leucocitaria de forma moderada, lo cual induce al tejidos adyacentes al trauma para reparar las lesiones, comenzando con la inflamación aguda, produciendo cambios vasculares abundantes, además se observó una hemorragia moderada en tejido conjuntivo por la rotura de los vasos sanguíneos, así mismo, estas concentraciones (75% y 100%) se observa la presencia leve de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas en comparación con el grupo control. No se observa vasos sanguíneos congestionados en mucosa oral en ninguno de los grupos.

El **tejido óseo** mostró que existe una significancia estadística ($p < 0.05$) el grupo control con los tratamientos de *Ephedra americana* posterior a **1 día** en cuanto a proceso inflamatorio de un traumatismo inducido al tejido óseo de los modelos biológicos experimentales. Se observa una presencia severa de leucocitos polimorfonucleares en el grupo control y en los tratamientos con extracto de *Ephedra americana*. Las concentraciones de 75% y 100% estimulan a la migración leucocitaria y, hemorragia moderada, sin embargo los tratamientos a concentraciones de 75% y 100% muestran una presencia leve de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Los resultados muestran a diferencia de mucosa oral una congestión moderada en tejido óseo.

Figura 1. Respuesta tisular (reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.



FUENTE: base de datos

*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

Tabla 2. Respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.

variable	SUB-INDICADOR	50%	75%	100%	Control
		\bar{x}_1	\bar{x}_2	\bar{x}_3	\bar{x}_4
Mucosa oral	Proliferación de fibroblastos en mucosa oral.	5,75	8,00	8,50	5,25
	Síntesis y organización de fibras colágenas en mucosa oral.	5,75	8,25	5,75	5,25
	Angiogénesis en mucosa oral.	3,25	5,50	5,50	2,75
	Proliferación y migración de células epiteliales en mucosa oral.	3,25	5,50	5,50	2,25
	Queratinización en mucosa oral.	5,75	8,25	8,25	3,25
Tejido óseo	Proliferación de osteoblastos y osteoclastos.	0,25	2,75	2,75	0,25
	Diferenciación de osteoblastos, osteoclastos y condroblastos.	0,25	2,50	2,50	0,25
	Formación de tejido osteoide.	0,25	2,50	2,50	0,25

FUENTE: base de datos

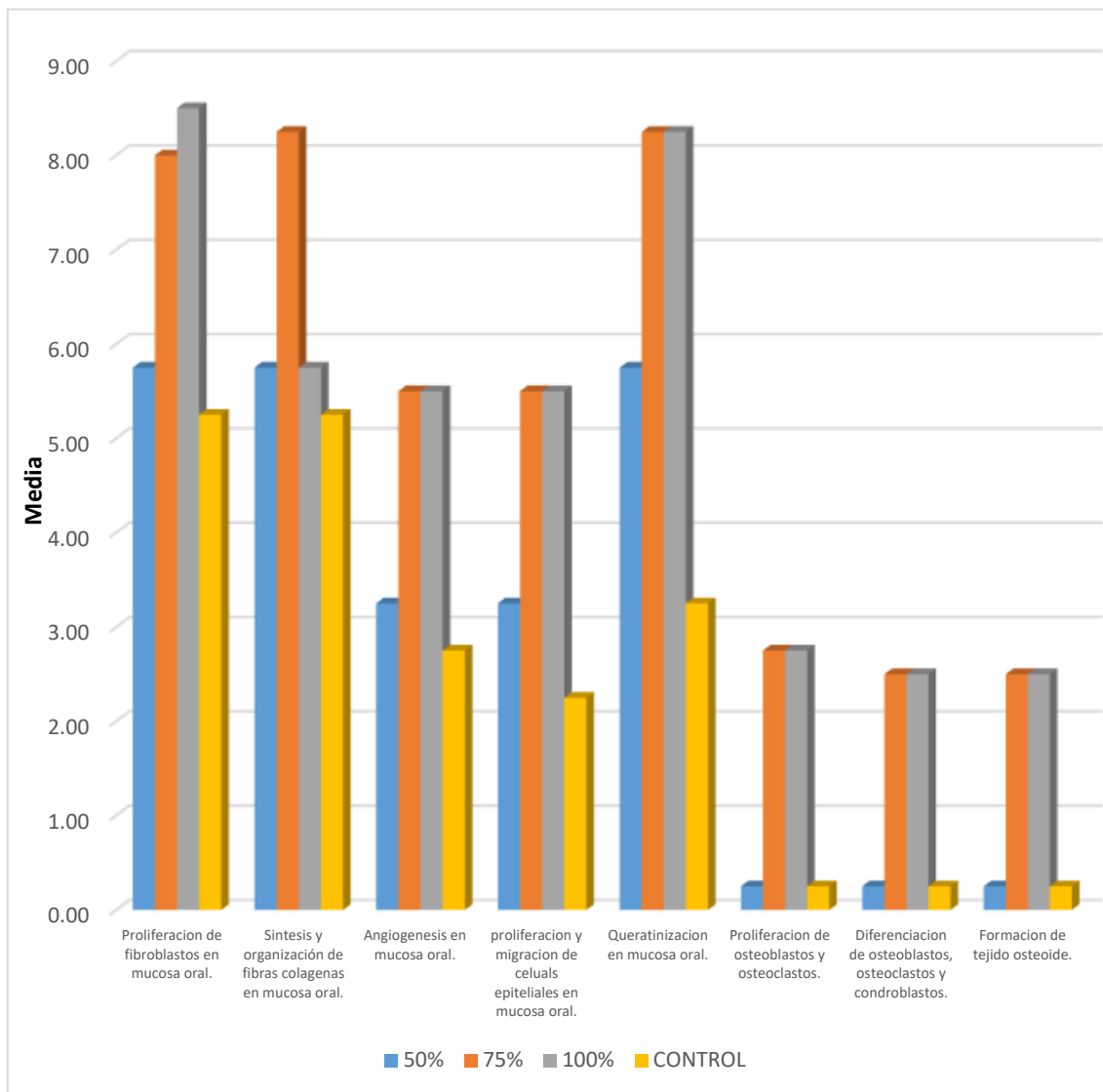
*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

INTERPRETACION: Los resultados del análisis de datos muestran que en **mucosa oral** existe una significancia estadística ($p < 0.05$) entre el grupo control con los tratamientos de extracto de *Ephedra americana* posterior a **7 días** al tratamiento en mucosa oral, siendo las más relevante el tratamiento a concentración de 75% con respecto al grupo control debido a que la proliferación de fibroblastos y la síntesis y organización de

fibras colágenas se muestra una cantidad abundante, así mismo la angiogénesis, proliferación y migración de células epiteliales se manifiestan moderadas en esta concentración 75% y 100%, a diferencia del grupo control, que se muestra leve. La queratinización se muestra más prominente en concentraciones de 75% y 100%. Con respecto a grupo control.

La respuesta de **tejido óseo** mostró que existe una significancia estadística ($p < 0.05$) entre el grupo control con los tratamientos de *Ephedra americana* posterior a **7 días** al tratamiento en tejido óseo, siendo la proliferación celular, formación de tejido osteoide más predominante a concentraciones de 100% y 75 % en comparación con el grupo control. Este proceso probablemente debido a las características antiinflamatorias y antimicrobianas que presenta la planta, lo cual facilita y acelera el proceso de proliferación de osteoblastos y osteoclastos; diferenciación de osteoclastos, osteoblastos y condroblastos, y la formación de tejido osteoide.

Figura 2. Respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.



FUENTE: base de datos

*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

Tabla 3. Respuesta tisular (remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) a 14 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.

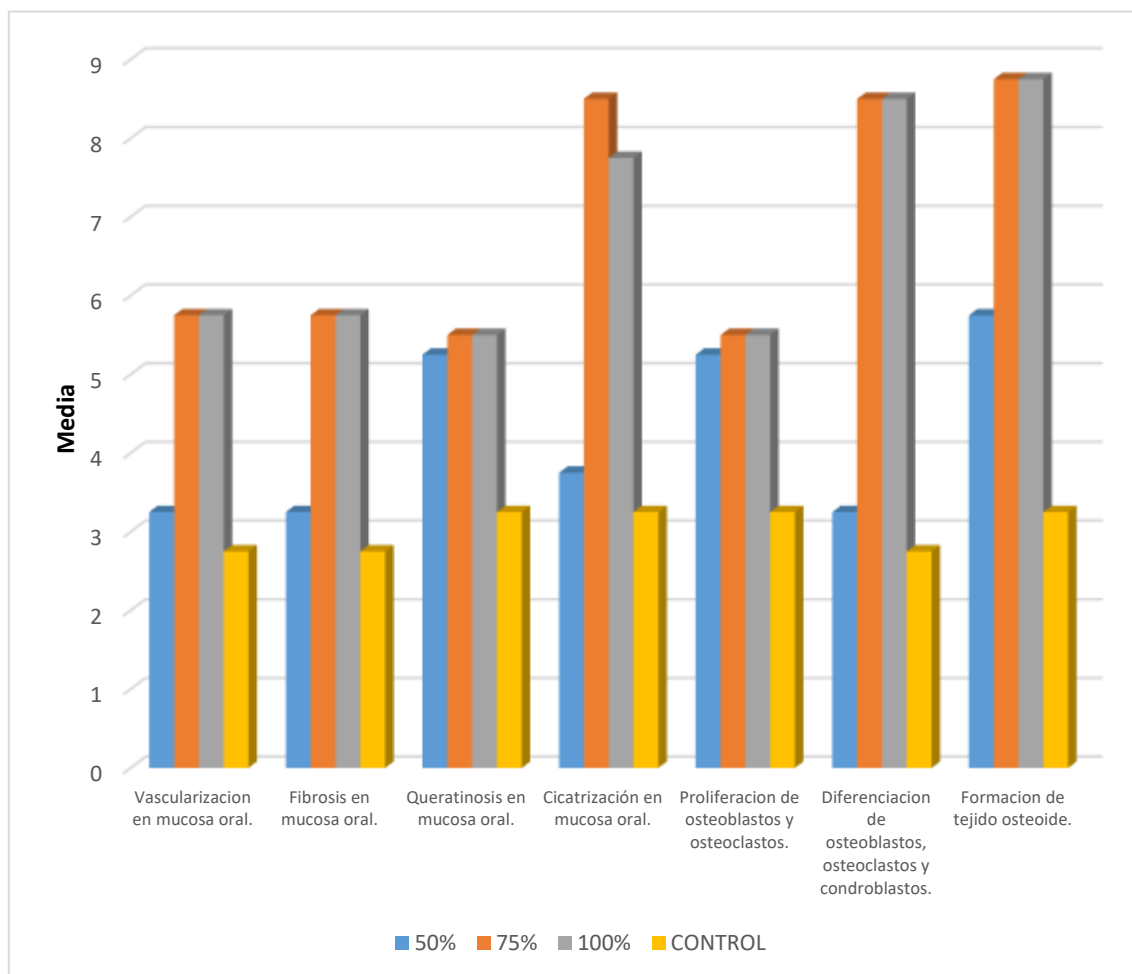
variable:	SUB-INDICADOR	50%	75%	100%	Control
		\bar{x}_1	\bar{x}_2	\bar{x}_3	\bar{x}_4
Mucosa oral	Vascularización en mucosa oral.	3,25	5,75	5,75	2,75
	Fibrosis en mucosa oral.	3,25	5,75	5,75	2,75
	Queratinosis en mucosa oral.	5,25	5,50	5,50	3,25
	Cicatrización en mucosa oral.	3,75	8,50	7,75	3,25
Tejido óseo	Proliferación de osteoblastos y osteoclastos.	5,25	5,50	5,50	3,25
	Diferenciación de osteoblastos, osteoclastos y condroblastos.	3,25	8,50	8,50	2,75
	Formación de tejido osteoide.	5,75	8,75	8,75	3,25

FUENTE: base de datos

*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

INTERPRETACION: Los resultados del análisis muestran que en **mucosa oral** existe una significancia estadística ($p < 0.05$) entre el grupo control con los tratamientos de *Ephedra americana* posterior a 14 días tratamiento en mucosa oral, dado que la fase de Remodelamiento es más predominante en el tratamiento a concentraciones de 75% y 100% que muestra mayor cicatrización, queratosis, fibrosis y vascularización con respecto al grupo control. En **tejido óseo** que una significancia estadística ($p < 0.05$) entre el grupo control con los tratamientos de *Ephedra americana* posterior a 14 días tratamiento en tejido óseo. La proliferación y diferenciación celular y formación de tejido osteoide a 14 días es abundante en las concentraciones de 75% y 100% con respecto al grupo control.

Figura 3. Respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.



FUENTE: base de datos

*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

Tabla 4. Respuesta tisular (remodelamiento en tejido óseo) a 28 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.

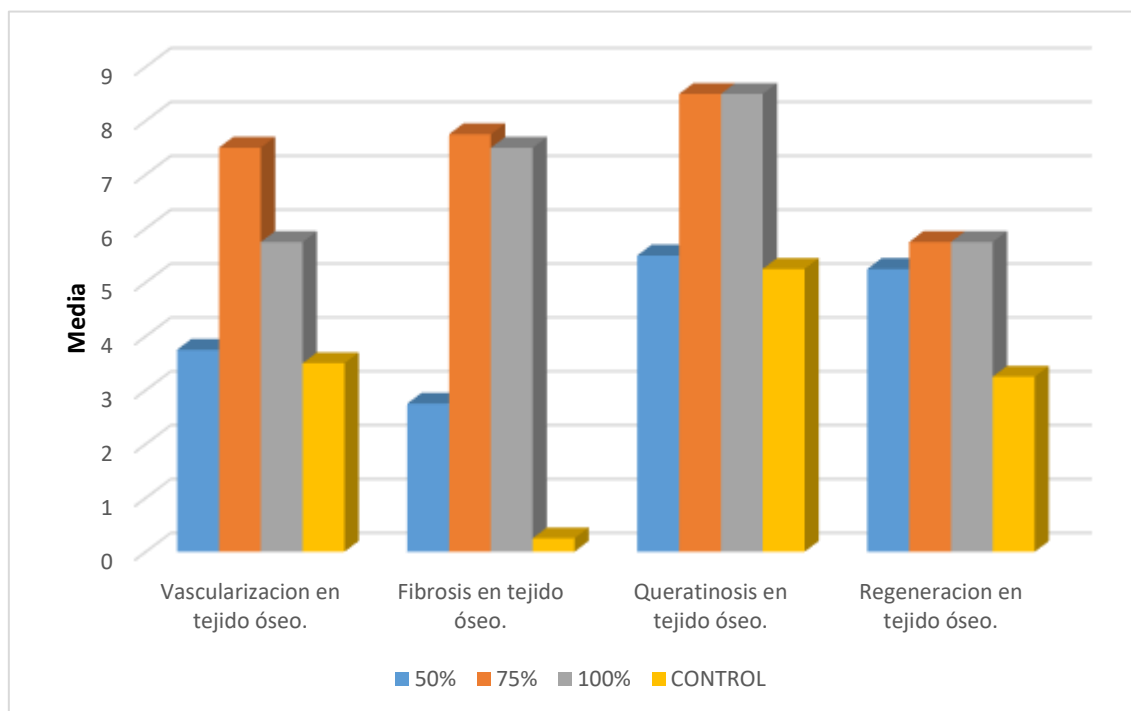
variable	SUB-INDICADOR	50% \bar{x}_1	75% \bar{x}_2	100% \bar{x}_3	Control \bar{x}_4
Tejido óseo	Vascularización en tejido óseo.	3,75	7,5	5,75	3,5
	Fibrosis en tejido óseo (periostio).	2,75	7,75	7,5	0,25
	Queratinosis en tejido óseo.	5,5	8,5	8,5	5,25
	Regeneración en tejido óseo.	3,50	5,75	5,75	3,25

FUENTE: base de datos

*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

INTERPRETACION: Los resultados del análisis muestran que en **tejido óseo** existe una significancia estadística ($p < 0.05$) entre el grupo control con los tratamientos de *Ephedra americana* posterior a **28 días** al tratamiento en tejido óseo. El remodelado de tejido óseo es más abundante en el tratamiento a 75% y 100%, sin embargo no obstante la regeneración se manifestó moderada, posee una cantidad abundante de vascularización y fibrosis de tejido óseo a nivel de periostio.

Figura 4. Respuesta tisular (remodelamiento en tejido óseo) a 28 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.



FUENTE: base de datos

*La escala de valoración Ausente (0), Escaso/leve (1-4), Moderado (5,6), Abundante/severo (7-10).

4.2. DISCUSION

El objetivo de la investigación es evaluar la respuesta tisular en mucosa oral y tejido óseo (por traumatismo inducido) de cobayos (*cavia porcellus*) a la aplicación de extracto de (*Ephedra americana*).

Investigaciones anteriores como Avalos⁷ demostraron que extracto etanólico de *Piper aduncum*, presentó efecto antiinflamatorio, a las concentraciones de 1%, 2% y 4%, en la inflamación inducida en *Rattus rattus*, resultado similar a esta investigación, pero diferentes concentraciones en donde los tratamientos con extracto de *Ephedra americana* mostraron una cantidad moderada de Leucocitos polimorfonucleares siendo estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Arriola y Sacsquispe²¹ en su estudio de efecto antiinflamatorio de la *E. americana HyB* en cirugía gingival en cobayos en donde a los 7 días de evaluación, la inflamación fue menor en el grupo experimental y en algunos casos hubo reparación final. Resultados distintos a esta investigación donde observó a 1 día de la aplicación de *Ephedra americana* una diferencia significativa ($P < 0.05$) en cuanto a la fase inflamatoria, que se expresó moderada haciendo consideración de los efectos antimicrobianos, hemostáticos y vasoconstrictores. Mientras que a los 7 días se observó una diferencia en la proliferación celular de fibroblastos probablemente debido a que *Ephedra americana* induce a una mayor síntesis de fibras colágenas además de estimular al estrato basal de la epidermis a una mayor mitosis favoreciendo la epitelización.

Bonilla y Pareja⁴ en su estudio de acción biológica de flavonoides de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) sobre el sistema inmunológico, encontraron como resultado que el extracto etanólico posee actividad antiinflamatoria, resultados similares a esta investigación, dado que existe una diferencia entre el tratamiento con extracto de *Ephedra americana* y el grupo control, probablemente debido a que también posee características antimicrobianas que pudieran facilitar la resolución de la inflamación y posterior reparación.

La literatura existente ha encontrado una fuerte relación entre el uso de principios activos de plantas tales como extracto etanólico de las hojas de *Dodonaea viscosa*⁵, *Solanum tuberosum* y membrana testácea⁶, de *Cupressus, sp*, *Artemisa absinthium*, de las partes aéreas del *Thymus vulgaris* y de la corteza de *Byrsonima crassifolia*⁸, *Agave americana*⁹, *Croton lechleri*¹⁰ *Bidens pilosa*, *Lippia nodiflora*¹¹, *Rosmarinus officinalis*,

Piper aduncum y *Equisetum arvense*¹³, *Pinus caribaea*¹⁸ y *Juglans neotropica* Diels¹⁹ los cuales mostraron efectos reparativos en tejidos blandos con lesiones. Resultados similares a esta investigación donde el tratamiento con extracto de *Ephedra americana* mostro una favorable resolución de la inflamación y posterior reparación, siendo los grupos experimentales mostraron en mucosa oral una cicatrización a los 14 días, probablemente debido a que los principios activos de *E. americana*, que probablemente inducen a la mitosis celular, (proliferación celular en el estrato basal de la epidermis) y estimula también a los fibroblastos a la síntesis de colágeno.

Ghasemi¹⁴ *et al* en su estudio de efecto del extracto hidro-alcohólico del tallo del *Ephedra pachyclada* para el tratamiento de ulcera gástrica, donde sus resultados mostraron que después de 3, 6, 9 y 12 días después del tratamiento el extracto hidro-alcoholico de *E. pachyclada* produjo el 51, 71, 98.9 y 100% de efectos curativos para mucosa gástrica dañada en etanol respectivamente. Resultados distintos esta investigación donde a los 14 días se observó una reparación de la mucosa oral, probablemente debido a los principios activos que presenta *Ephedra americana* estimula el proceso de reparación tisular.

Lacolla¹⁷ *et al* encontró que el extracto de *Cichorium intybus* mostraron retardo en el proceso de curación de la herida evidenciado por una significativa mayor permanencia de los neutrófilos y el retraso de la aparición de los fibroblastos en la zona lesionada. Resultados distintos a esta investigación en donde el nivel de inflamación a un día de tratamiento fue menor en el tratamiento con *E. americana* a concentración de 100%, probablemente debido a las características de los principios activos, como antimicrobiano, que facilitaría el proceso de fagocitosis por parte de los leucocitos y al mismo tiempo, los principios activos que administrados regionalmente estimulan el proceso de proliferación celular (migración leucocitaria y epitelización).

Albuquerque¹² *et al*, aplicó extracto etanólico del tallo de la *Z. tuberculosa* en ratones Wistar que presentaron mejores resultados en la reducción del diámetro de la herida, dato confirmado por la presencia de reepitelización en los cortes histológicos. Resultado similares a esta investigación en donde la proliferación de fibroblastos, angiogénesis, migración de células epiteliales tuvo una diferencia estadística ($p < 0.05$), probablemente debido a los principios activos de *Ephedra americana* tales como activad antimicrobiana que facilita la fagocitosis de microorganismos y células dañadas. Así

mismo estos principios activos estimulan a proliferación y síntesis de fibras colágenas que proporcionan una base para el desarrollo de angiogénesis acelerando el proceso de reparación.

Estudios sobre alveolos post-exodoncia realizados por Rosales¹⁶ demostraron que el *Cestrum parqui* L`herit muestran una respuesta inflamatoria y tisular a diferencia de Nabo silvestre *Brassica Rappa Campestris* qque mostro menor grado actividad en cuanto a la respuesta inflamatoria. Duran y Sotelo²⁰ usó *Erithroxylum coca Lam* y *Uncaria tomentosa (willd)* encontrando que *Erythroxyllum coca Lam* y *Uncaria Tomentosa* tuvo mejor respuesta titular en cuanto la reacción inflamatoria y remodelamiento reacción inflamatoria aguda leve al 21avo dia. Flores²³ también obtuvo un favorable efecto clínico y reparativo y respuesta histológica de la aplicación de la U. tomentosa. Resultados similares a esta investigación en donde el proceso inflamatorio es menor en los grupos experimentales, probablemente a que los principios activos de *Ephedra americana* facilita la resolución de la inflamación y posteriormente también estimula a la proliferación celular y remodelamiento.

Quiroz¹⁵ en su estudio al comparar el aloinjerto con el xenoinjerto según periodos de tiempo (30 días) y áreas alveolares se encontró diferencia en el tejido de granulación, matriz provisional y hueso mineralizado, encontrando los mayores valores en el grupo con aloinjerto, resultados similares a esta investigación, en donde el tratamiento con *Ephedra americana* mostro mayor efectividad, siendo a los 28 días latente la fase de remodelamiento óseo, probablemente debido a las características antimicrobianas de *Ephedra americana* que facilita la resolución de la inflamación y así mismo estimula a las osteoblastos a la síntesis te tejido osteoide, favoreciendo el proceso de reparación

Vadillo²² en su estudio respuesta tisular de alveolos post exodoncia de *Cavia porcellus* después de la aplicación intra-alveolar de *Aloe vera* y *Croton lechleri* concluyo que presenta un efecto beneficioso pero no estadísticamente significativo. Resultados similares a los de esta investigación, dado que muestra una diferencia estadística ($p < 0.05$) considerando también que la cicatrización de la mucosa oral con tratamiento de extracto de *Ephedra americana* concluye a los 14 días en comparación con el grupo control que aún no concluyo, mientras que el tejido óseo con tratamiento a los 28 días, mostro que el tejido aún está en fase de remodelamiento, pero con diferencia al grupo control.

V. CONCLUSIONES

La respuesta tisular (reparación) de mucosa oral y tejido óseo (por traumatismo inducido) de cobayos (*Cavia porcellus*) **se acelera** a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*).

La respuesta tisular (reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentración de 100% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*, es **moderada** en cuanto al proceso inflamatorio.

La respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días es **abundante** posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.

La respuesta tisular (remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) a 14 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*, es **favorable** con el tratamiento de *E. americana* dado que a los 14 días induce a un **remodelamiento completo** de mucosa oral y proliferación celular de forma **moderada** en tejido óseo.

La respuesta tisular (remodelamiento en tejido óseo) a 28 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* en tejido óseo de *C. porcellus*, muestra que el proceso de **remodelamiento óseo aún no ha concluido satisfactoriamente**, pero por la presencia de una abundante vascularización, este puede finalizar la reparación favorablemente.

VI. RECOMENDACIONES

- Ampliar el tiempo de 28 días a más para la respuesta de tejido óseo.
- Realizar investigación con principios activos independientes para determinar cuál estimula la reparación tisular.
- Realizar la investigación con la combinación del extracto de *Ephedra americana* e injertos óseos en modelos experimentales biológicos.
- Realizar la investigación con infusión de *Ephedra americana*, para comparar con el extracto por arrastre al vapor.
- Realizar la investigación sobre el uso de *Ephedra americana* en la especialidad de periodoncia como colutorio.
- Realizar la investigación sobre el uso de *Ephedra americana* en la especialidad de endodoncia como irrigante o medicación intraconducto.
- Comunicar a la población con bajos recursos económicos sobre los efectos terapéuticos de la *Ephedra americana*, dado que favorece el proceso de reparación tisular.

VII. REFERENCIAS

1. Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins Patología Humana [Robbins Basic Pathology]. nevena ed. Editorial GC, editor. Barcelona: El Sevier; 2013.
2. Gonzales V. esorib. [Online].; Fisiología de la cicatrización del alveolo [cited 2017 06 26. Available from: http://www.esorib.com/trabajos_mes/Fisiologia%20cicatriz%20alveolo.pdf.
3. Dunn D. Wound_Closure_Manual. [Online].; 2006 [cited 2017 06 15 [Chapter 1 "wound healing and management"]. Available from: http://www.uphs.upenn.edu/surgery/Education/facilities/measey/Wound_Closure_Manual.pdf.
4. Bonilla P, Bertha P. Flavonoides de Ephedra americana (pinco-pinco), acción biológica sobre el sistema inmunológico (Ige). Ciencia e investigación. 2001 octubre; 4(1).
5. Cueva R. repositorio.uma. [Online]; 2017. Acceso 15 de Marzo de 2018. Disponible en: <http://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/UMA/156/OICI-026-2016%20Informe.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
6. Carranza R, Huamanchaque A “Efecto cicatrizante de una crema a base de *solanum tuberosum* (tocosh) y membrana testácea de huevo de gallina en ratones albinos con lesiones por heridas punzo cortantes”[Tesis]. Universidad Inca Garcilazo de la Vega. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. 2017
7. Avalos A “Efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación inducida en *Rattus rattus* var. *norvegicus*”[Tesis]. Universidad Nacional de Trujillo. Escuela de postgrado en farmacia y bioquímica. 2016
8. Chinchilla Y “Validación del Efecto Cicatrizante de las Hojas de Ciprés (*Cupressus*, sp.), Ajenjo (*Artemisia absinthium*), de las Partes Aéreas del Tomillo (*Thymus vulgaris*) y de la Corteza de Nance (*Byrsonima crassifolia*) en Heridas Producidas a Ratas Albinas.”[Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2016
9. Prado I. “Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* “cabuya” Ayacucho 2013” [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la salud. 2015
10. Gallardo G, Barboza L. Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* “Sangre de Drago”. Revista Científica Ciencia Médica. 2015; 18(1).
11. Gutierrez N, Herrera E. “EFECTO CICATRIZANTE DE *Bidens pilosa* (amor seco)

- SOLA Y EN ASOCIACIÓN A *Lippia nodiflora* (tikil tikil) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA-2014” [Tesis]. Universidad Católica de Santa María. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas. 2015.
12. Albuquerque P, Rocha T, Fernandes A, Araújo J, Leite I, Assis M. Evaluación del extracto de la *Zeyheria tuberculosa* en la perspectiva de un producto para cicatrización de heridas. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2014; 22(1).
 13. Proaño J. “Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero (*rosmarinus officinalis*), matico (*piper aduncum*) y cola de caballo (*equisetum arvense*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)” [Tesis]. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. 2015.
 14. Ghasemi A, Amirmohammadi M, Azizi S, Craker L. Healing effect of hydro-alcoholic extract of *ephedra pachyclada* boiss. In experimental gastric ulcer in rat. Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research 2013; Marzo; 70(6).
 15. Quiroz K “Comparación histológica del aloinjerto y xenoinjerto en la cicatrización alveolar post exodoncia en *Cavia porcellus*” [Tesis]. Universidad Nacional del mayor de san marcos. Facultad de Ciencias de la Salud. 2013.
 16. Rosales A “Respuesta tisular a la aplicación de *brassica rappa campestri* (nabo solvestre) y *Cestrum parqui l'herit* (hierba santa) en alveolos post exodoncia de cobayos clase I, Puno 2011”. [Tesis]. Universidad Nacional del Altiplano-Puno. Facultad de Ciencias de la Salud. 2011.
 17. Lacolla D, García, M, Toribio, M, Sosa, A. Acción de extracto de *Cichorium intybus* sobre componentes celulares y tisulares en heridas cutáneas en ratones blancos. Ciencias Veterinarias. 2011; 13(1).
 18. Mancebo B, Sánchez L, Díaz S, Bulnes C, Ivis A, Escobar A, et al. Efecto cicatrizante de la pasta de clorofila-caroteno de *Pinus caribaea* var. *caribaea* sobre heridas abiertas asépticas. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2011; 16(1).
 19. Juro , Flores V, Mendoza , del Carpio. Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels “nogal” en ratones albinos. Folia dermatol. Peru. 2010; 21(1).
 20. Duran R. y Sotelo H. “Respuesta tisular al uso de los apósitos de *Erythroxylum coca* Lam en comparación con *Uncaria tomentosa* (Willd) en los cobayos post exodoncia en *cavia porcellus*, Puno 2009” [Tesis]. Universidad Nacional del Altiplano-Puno. Facultad de Ciencias de la Salud. 2010.
 21. Arriola L, Sacsquispe S. Efecto antiinflamatorio de la *Ephedra americana* sobre la

- encia de cobayos en procedimiento quirurgico. Rev Estomatol Herediana. 2010; 20(4).
22. Vadillo G. “Estudio comparativo de la respuesta tisular al relleno alveolar a base de Aloe vera y Croton lechleri, en Alvéolos post exodoncia en incisivos de *Cavia porcellus*” [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología. 2009.
 23. Florez L. “Efecto clínico y resultado histológico de la aplicación de uncaria tomentosa en alveolos post exodoncia de molares en cobayos clase I . Puno 2005” [Tesis]. Universidad Nacional del Altiplano-Puno. Facultad de Ciencias de la Salud. 2010.
 24. Ibarra Y “FLora fanerogámica del distrito héroes albarracín - Tacna” [Tesis]. Universidad Nacional Jorge Basadre Ghromann. Facultad de Ciencias. 2003.
 25. Lack AJ, Evans DE. Plants Biology. Primera ed. Barlass P, editor. New York: BIOS Scientific Publishers Limited; 2001.
 26. Agapito F. 1100 plantas medicinales. Primera ed. Editorial Isabel. Lima. 2003
 27. Johnson R. Biology. Sexta ed. Boston: McGraw-Hill; 2002
 28. Ministerio de salud - Chile. Ephedra. ISP. 2004; I(1).
 29. UNEE. Gimnospermas. Biotaxonomía de espermatofitas. diversidad vegetal. 2013. Guía de Consulta Diversidad Vegetal. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del norteste. Argentina(UNNE).
 30. Shipunov. Introduction to botany. [Online].; 2016 [cited 2017 Junio 10. Available from: http://ashipunov.info/shipunov/school/biol_154/.
 31. Mendez C. “Distribucion geografica y ecologica del genero Ephedra L. en el atltiplano potosino”[tesis]. Universidad Autonoma de san Luis de Potosi. Facultad de Agronomia. 1998
 32. INIAP. Manual de cuyes. [Online].; 2011 [cited 2017 06 10. Available from: http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Manual_%20cuyes.pdf
 33. Ataucusi. Manejo técnico de la crianza de cuyes en la sierra del Peru. Primera ed. Perú Cd, editor. Lima: JPG Corporación S.A.C.; 2015.
 34. Montes t. Guia tecnica "Asistencia tecnica dirigida en crianza tecnificada de cuyes". 2012. Guia proporcionada por UNALM, mediante su Oficina academica de extension y proyeccion social.
 35. Sandival H. “Evaluación de diferentes tipos de dietas en cobayos en crecimiento” [Tesis]. Universidad Tecnica de Ambato. Facultad de ingeniería agronomica. 2013.
 36. Gartner L, Hiatt J. Texto atlas de Histologia [Color textbook of histology]. Tercera ed. Tovar M, Heras C, editors. Mexico: Elsevier Saunder; 2008.

37. Pawlina W. Ross M. Histologia texto y atlas. Correlacion con biologia molecular y celular [Histology: A Text and Atlas. With Correlated Cell and Molecular Biology,]. Septima ed. Mendoza C, Merino B, editors. Barcelona: Wolker Kluwer; 2016.
38. Sepulveda J. Texto atlas de histologia, biologia celular y tisular. Primera ed. de Leon Fraga J, editor. Mexico: Mc Graw-Hill; 2012.
39. Mohan H. Textbook of Pathology. sexta ed. Mohan P, Mohan T, Mohan , editors. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd; 2010
40. Levison D. patología de MUIR. Catorceava ed. Editorial Mc Graw Hill.2008
41. Orsted H, Keast D, Forest-Lalande L, Francoise-Megie M. Basic principles of wound healing. Wound Care Canada. 2011 septiembre; 9(2).
42. Barret K, Barman S, Boitano S, Brooks H. Ganong Fisiologia Medica [Ganong's Review of Medical Physiology]. vigesimo segunda ed. Leon Praga J, Garcia N, Salas A, editors. Mexico: The McGraw-Hill Companies; 2012.
43. Perez J. Manual de patologia clinica. Sexta ed. Editorial ElSevier Masson. 2013
44. Miloro M, Ghali GE, Larsen P, Waite P. Peterson's Principles of Oral and Shipunov. Introduction to botany. [Online].; 2016 [cited 2017 Junio 10. Available from: http://ashipunov.info/shipunov/school/biol_154/.
45. Carton J. Manual de patología clínica. Primera ed. Editorial Mc Graw Hill. 2013.
46. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006;11:E47-51.
47. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone re-generation II. The remodeling process. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006;11:E151-7.
48. SENA Sdb. Introducción a la industria de los aceites esenciales de las plantas medicinales y aromaticas. Desconocido. NatuAEsen, Incubar, SENA.
49. Gonzalez M. protocolo para el uso de Promazin en fauna silvestre [Online].; 2009 [cited 2017 06 28]. Available from: http://veterinariosenweb.com/campus/cdvl/memorias/material/102_promazin.pdf
50. Gay C, Tratado de cirugía bucal. España. Ediciones Ergon. 1999
51. GuiaSalud. Guia de practica clinica en el SNS. [Online]; 2018. Acceso 1 de Mayo de 2018. Disponible en: <http://www.guiasalud.es.>
52. Sanchez A “Introduccion a la experimentación con animales”. [Tesis]. Universidad de Jaen. Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación. 2015.

ANEXOS

ANEXO A: acta de aprobación de proyecto de tesis.



2017-640



ACTA DE APROBACIÓN DE PROYECTO DE TESIS

En la Ciudad Universitaria, a los 28 días del mes AGOSTO del 2017 siendo horas 09:38:36. Los miembros del Jurado, declaran APROBADO POR REGLAMENTO el PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE TESIS titulado:

RESPUESTA TISULAR A LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE PINCO-PINCO (EPHEDRA AMERICANA) EN MUCOSA ORAL Y TEJIDO OSEO DE COBAYOS (CAVIA PORCELLUS), PUNO 2017.

Presentado por el(la) Bachiller:

JOHN EDUARDO ZAPANA QUISPE

De la Escuela Profesional de:

ODONTOLOGÍA

Siendo el Jurado Dictaminador, conformado por:

- Presidente : CD. CESAR AUGUSTO MOLINA DELGADO
- Primer Miembro : M.Sc. KANDY FAVIOLA TUERO CHIRINOS
- Segundo Miembro : KAREN PAOLA PINEDA PALOMINO
- Director/Asesor : Mg. SONIA CAROLL MACEDO VALDIVIA

Para dar fe de este proceso electrónico, el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, mediante la Plataforma de Investigación se le asigna la presente constancia y a partir de la presente fecha queda expedito para la ejecución de su PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE TESIS.

Puno, AGOSTO de 2017



Vicerrectorado de Investigación
Teléfono: 051-365254
e-mail: vriunap@gmail.com
web: http://vriunap.pe



[Firma]
DR. WENCESLAO MEDINA ESPINOZA
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN

ANEXO B. Informe de prueba piloto.

INFORME DE PRUEBA PILOTO

PARA : C.D. Cesar Augusto Molina Delgado (Presidente)
 M.Sc. Kandy Faviola Tuero Chirinos (Primer Miembro)
 M.Sc. Karen Paola Pineda Palomino (Segundo Miembro)
 Docentes de la EPO
DE : John Eduardo Zapana Quispe
 Tesista
ASUNTO : Informe de Prueba Piloto de Proyecto de Tesis
FECHA : 5 de diciembre de 2017

PRIMERO: en el mes de octubre del presente año, en el laboratorio de Ingeniería Química la formulación de extracto por arrastre de vapor del Ephedra americana, el cual fue utilizado en la prueba piloto y presenta su respectivo análisis. (adjunto)

SEGUNDO: en el mes de noviembre se realizó la prueba piloto del Proyecto "RESPUESTA TISULAR A LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE PINCO-PINCO (EPHEDRA AMERICANA) EN MUCOSA ORAL Y TEJIDO OSEO DE COBAYOS (CAVIA PORCELLUS), PUNO 2017", en el cual obtuvo los siguientes resultados:

- El proceso de reparación de la mucosa oral y tejido óseo es más notable con la aplicación de extracto de E. americana a concentración de 50, 75 y 100% en comparación con el grupo control.
- Existe una mínima diferencia entre el grupo control y la aplicación de extracto al 50%
- La concentración al 100% no mostro efectos novivos.

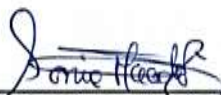
TERCERO: haciendo consideración de la ejecución se propone las siguientes modificaciones:

- Cantidad de extracto aplicado de 1mL a 0.2mL.
- Procesamiento de laboratorio: agregar al procesamiento de la muestra, el ácido nítrico 2% para eliminación de sustancia inorgánica de tejido óseo.
- Modificación de operacionalización de variables en cuanto reacción inflamatoria aguda y crónica, granulación de tejidos y epitelización agregando el sub-indicador hemorragia, congestión, fibrosis y queratinización.
- Agregar a operacionalización de variables en cuanto a respuesta tisular de tejido óseo (reacción inflamatoria, proliferación celular, formación de cayo, y remodelación).

CUARTO: teniendo en consideración la ejecución de la prueba piloto, se hace la propuesta de un nuevo cronograma.



 John Eduardo Zapana Quispe
 Tesista



 Mg Sonia Caroll Macedo Valdivia
 Director de Tesis



ANEXO C. Ficha quirúrgica, de aplicación de extracto y toma de muestra

IDENTIFICACION DE ESPECIMEN

IDENTIFICACIÓN DE :.....
 ESPECIMEN
 NUMERO DE ESPECIMEN :.....
 PESO :.....
 Observaciones:.....

ACTO QUIRURGICO Y APLICACIÓN DE EXTRACTO

FECHA DE INTERVENCION :.....
 HORA :.....
 TIEMPO DE TRABAJO :.....
 Observaciones:.....

DECESO DEL ESPECIMEN Y TOMA DE MUESTRA

TIEMPO POST 1 día
 APLICACIÓN DE 7 días
 EXTRACTO 14 días
 28 días
 FECHA DE DECESO :.....
 HORA :.....
 TIEMPO DE TRABAJO: :.....
 DESCRIPCIO DE MUESTRA :.....

Observaciones:.....

ANEXO D. Ficha de observación

FECHA:

ROTULO DE LAMINA :

TEJIDO	PROCESO FISIOLÓGICO		INDICADOR	*INTERPRETACION HISTOLOGICA
Mucosa oral	Reacción inflamatoria	Inflamación aguda	1. LPMN	
			2. Migración leucocitaria	
			3. Cambios vasculares	
			4. hemorragia	
		Inflamación crónica	5. Presencia de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas	
			6. Congestión	
	Granulación de tejidos	Síntesis de colágeno	7. Proliferación de fibroblastos	
			8. Síntesis y organización de fibras colágenas	
			9. Angiogénesis	
	Epitelización	Proliferación celular	10. Proliferación y migración de células epiteliales	
			11. Queratinización	
	Remodelamiento		12. Vascularización	
			13. Fibrosis	
			14. Queratinosis	
			15. Cicatrización	
*(1) Ausente. (2) Escaso. (3) Moderado.(4) Abundante				

Observaciones:

.....

.....

.....

.....

.....

Tejido óseo	Reacción inflamatoria	Inflamación aguda	16. LPMN	
			17. Migración leucocitaria	
			18. Cambios vasculares	
			19. hemorragia	
		Inflamación crónica	20. Presencia de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas	
			21. Congestión	
	Proliferación celular		22. Proliferación de osteoblastos y osteoclastos	
	Formación de callo		23. Diferenciación de osteoclastos, osteoblastos y condroblastos	
			24. Formación de tejido osteoide	
	Remodelado óseo		25. Vascularización	
			26. Fibrosis	
			27. Queratinosis	
28. Cicatrización				
*(1) Ausente. (2) Escaso. (3) Moderado.(4) Abundante				

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ANEXO E. Constancia de laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE ZOOLOGÍA APLICADA



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE HACE CONSTAR:

Que, el Bachiller **JOHN EDUARDO ZAPANA QUISPE**, egresado de la Escuela Profesional de Odontología, de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, ha realizado la ejecución del proyecto de tesis titulado **“Respuesta tisular a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) en mucosa oral y tejido óseo de cobayos (*Cavia porcellus*), Puno 2017”**, el cual fue realizado durante el periodo Noviembre del 2017 – Abril del 2018.

Se emite la presente constancia a solicitud del interesado.



Buenaventura O. Gaspio Casque
CNP N° 2268

Puno, Abril del 2018.

ANEXO F. Constancia de lectura de láminas histológicas.

CONSTANCIA

LECTURA DE LAMINAS HISTOLOGICAS

Por medio del presente documento, el que suscribe Dr. Félix Paul Garnica Alata, especialista en Anatomía Patológica con registro N°25851, certifica haber realizado la lectura de láminas histológicas correspondientes al proyecto de tesis titulado "Respuesta tisular a la aplicación de Extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) en mucosa oral y tejido óseo de cobayos (*Cavia porcellus*), Puno 2017". Estudio realizado por el Bachiller en Ciencias de la Odontología, John Eduardo Zapana Quispe, el cual efectuó la presentación de 66 láminas histológicas debidamente ordenadas y rotuladas, las cuales fueron lecturadas e interpretadas en el mes de Abril del presente año.

Así mismo, mediante la realización de la prueba piloto, se valida el instrumento y metodología de investigación, que fue realizada en noviembre del 2017.

Se expide el presente, en cumplimiento de los requerimientos del interesado.


FELIX PAUL GARNICA ALATA
Anatomía Patológica
CMP. 25851 RNE 29318

Puno, Abril del 2018.

ANEXO G: Informe de Anatomía Patológica.

INFORME DE ANATOMIA PATOLOGICA

CURSO :MARZO DEL 2018
 REF. :PROYECTO DE TESIS

A QUIEN CORRESPONDA:

PRIMERO: se realizó la lectura de 66 láminas histológicas, obtenidas de la realización del proyecto de tesis "Respuesta tisular a la aplicación de Extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) en mucosa oral y tejido óseo de cobayos (*Cavia porcellus*), Puno 2017-2018". Estudio realizado por el Bachiller en Ciencias de la Odontología, John Eduardo Zapana Quispe, el cual se rotuló de acuerdo al siguiente cuadro:

GRUPO	NUMERO DE ESPECIMEN	ROTULO DE LAMINAS HISTOLOGICAS			
		Sin aplicación de extracto	50%	75%	100%
Grupo control y experimental "A"	001	001	002	003	004
	002	005	006	007	008
	003	009	010	011	012
	004	013	014	015	016
Grupo control y experimental "B"	005	017	018	019	020
	006	021	022	023	024
	007	025	026	027	028
	008	029	030	031	032
Grupo control y experimental "C"	009	033	034	035	036
	010	037	038	039	040
	011	041	042	043	044
	012	045	046	047	048
Grupo control y experimental "D"	013	049	050	051	052
	014	053	054	055	056
	015	057	058	059	060
	016	061	062	063	064
ESPECIMEN N° 017: Histología normal de maxilar superior 065					
ESPECIMEN N° 017: Histología normal de maxilar superior 066					

SEGUNDO: Se evaluó en cada muestra de acuerdo al tipo de tejido. En mucosa oral se evaluó reacción inflamatoria, granulación de tejidos, epitelización y remodelación, mientras en tejido óseo, inflamación, proliferación celular, formación de cayo y remodelado óseo, registrando los resultados de las lecturas realizadas en la ficha correspondiente.

CUARTO: se emite el presente informe de lectura histológica según los requerimientos del interesado.

Puno, marzo del 2018.

FELIX PAUL GARNICALATA
 Anatomía Patológica
 CMP 25851 RNE 29318

ANEXO H: Constancia de laboratorio de la facultad de ciencias agrarias.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA
LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE HACE CONSTAR:

Que, el Bachiller **JOHN EDUARDO ZAPANA QUISPE**, egresado de la Escuela Profesional de Odontología, de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, ha realizado la obtención, análisis físico-químico y determinación de grasa, proteínas y calcio del EXTRACTO POR ARRASTRE DE VAPOR de la planta *EPHEDRA AMERICANA*, para el proyecto de tesis titulado “Respuesta tisular a la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) en mucosa oral y tejido óseo de cobayos (*Cavia porcellus*), Puno 2017”, el cual fue realizado en el mes de octubre del 2017.

Se emite la presente constancia a solicitud del interesado.



Puno, octubre del 2017.

ANEXO I: Resultados de análisis de extracto de *Ephedra americana*.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
 ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA
 LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA



RESULTADO DE ANALISIS

ASUNTO : ANÁLISIS DE PLANTA PINCO-PINCO (EPHEDRA AMERICANA)

PROCEDENCIA : DIST. LAMPA PROV. Y DEPARTAMENTO – PUNO 3930 m.s.n.m.
INTERESADO : JOHN EDUARDO ZAPANA QUISPE
PRODUCTO : PARTE AEREA DE PINCO-PINCO
FECHA DE ANÁLISIS : 03/10/ 2017
FECHA DE ENTREGA : 14/10/ 2017

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA:
REYNO : Plantae
DIVISION : Spermatophyta
CLASE : Gnetopsida
ORDEN : Gnetales
FAMILIA : Ephedraceae
GENERO : Ephedra
ESPECIE : Ephedra americana

CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE LA MUESTRA:
ASPECTO : Solido, libre de materias extrañas, malas hierbas, plagas y hongos
COLOR : Verdoso
TALLOS Y HOJAS : Consistencia blanda, adherida al tallo
CANTIDAD : 5 Kg. aproximadamente

PROCESAMIENTO

Se inició la deshidratación y pulverizado de la muestra, seguido de la colocación de la muestra en el equipo destilador de aceites esenciales, agregándole 2000 mL de agua destilada para su extracción obteniéndose 400mL de extracto, con olor particular, con presencia minúscula de aceite. Se denomina **EXTRACTO POR ARRASTRE DE VAPOR**, el cual se le realizo distintos análisis cuyos resultados son:

RESULTADOS:

DETERMINACIONES FÍSICO-QUÍMICAS:
Color : incoloro
Aspecto : líquido
pH (a temperatura 25 °C) : 3.63
Conductividad eléctrica : 0.5mS/cm
Densidad : 1.0038 g/mL

DETERMINACION DE GRASA, PROTEINAS y CALCIO:
Grasa : 31.23%
Proteínas : 1.69%
Calcio : 7.60 mg/L

CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO

EXTRACTO	AGUA DESTILADA	CONCENTRACION
100%	0%	100%
50%	50%	50%
75%	25%	75%

Puno, C.U. Octubre del 2017.



ANEXO J. Constancia de venta de modelos experimentales biológicos



PERÚ
Ministerio
de Agricultura y Riego



"AÑO DEL DIALOGO Y LA RECONCILIACION NACIONAL"

CONSTANCIA

Conste por el presente documento que el Sr. John Eduardo Zapana Quispe, identificado con DNI: 71819342, Domiciliado en la ciudad de Jullaca, Provincia de San Román, ha adquirido de la Estación Experimental Illpa- INIA, 21 Cuyes mejorados de la Línea Perú, con las siguientes características:

- Clase I (SEGÚN PELAJE)
- Tipo A (SEGÚN CONFORMACION)
- EDAD DE 04 MESES Aprox.
- Peso aprox 500 gr.
- Sexo: machos

Se expide el presente a solicitud del interesado,

Centro Experimental Illpa, febrero 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA
ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGRARIA ILLPA PUNO
Ing. Darcel Quispe Melo
RESIDENTE CENTRO DE INVESTIGACIÓN
Y PRODUCCIÓN ILLPA - HUANGORA

cc. Arch.

100%	26. FIBROSIS EN TEJIDO OSE..	4	7,50	0,58	6,58	8,42	25,98	0,0001
100%	27. QUERATINOSIS EN TEJIDO..	4	8,50	0,58	7,58	9,42	29,44	0,0001
100%	28. REGENERACION EN TEJIDO..	4	5,75	0,50	4,95	6,55	23,00	0,0002
CONTROL	25. VASCULARIZACION EN TEJ..	4	3,50	0,58	2,58	4,42	12,12	0,0012
CONTROL	26. FIBROSIS EN TEJIDO OSE..	4	0,25	0,50	-0,55	1,05	1,00	0,3910
CONTROL	27. QUERATINOSIS EN TEJIDO..	4	5,25	0,50	4,45	6,05	21,00	0,0002
CONTROL	28. REGENERACION EN TEJIDO..	4	3,25	0,50	2,45	4,05	13,00	0,0010

ANEXO M. Análisis de varianza y prueba de Tukey.

M.1 Análisis de la varianza y comparación de rangos múltiples de Tukey para análisis de respuesta tisular (reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior a la aplicación de extracto de *Ephedra americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en comparación con el grupo control.

1. LPMN EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
1.LPMN EN MUCOSA ORAL	16	0,86	0,83	7,08	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	22,25	3	7,42	25,43	<0,0001
GRUPO	22,25	3	7,42	25,43	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	25,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
100%	5,75	4	0,27 A
75%	7,50	4	0,27 B
50%	8,50	4	0,27 B C
CONTROL	8,75	4	0,27 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

2.MIGRACION LEUCOCITARIA EN MUCOSA

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
2.MIGRACION LEUCOCITARIA E..	16	0,90	0,87	8,47	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,25	3	10,08	34,57	<0,0001
GRUPO	30,25	3	10,08	34,57	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	33,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
100%	5,50	4	0,27 A
75%	5,50	4	0,27 A
50%	5,75	4	0,27 A
CONTROL	8,75	4	0,27 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

3. CAMBIOS VASCULARES EN MUCOSA ORA

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
3. CAMBIOS VASCULARES EN M..	16	0,90	0,87	7,72	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,50	3	10,17	34,86	<0,0001
GRUPO	30,50	3	10,17	34,86	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	34,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
50%	5,50	4	0,27 A
CONTROL	5,75	4	0,27 A

75%	8,25	4	0,27	B
100%	8,50	4	0,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

4. HEMORRAGIA EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
4. HEMORRAGIA EN MUCOSA OR..	16	0,92	0,90	7,72	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	42,50	3	14,17	48,57	<0,0001
GRUPO	42,50	3	14,17	48,57	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	46,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
100%	5,25	4	0,27 A
75%	5,50	4	0,27 A
50%	8,50	4	0,27 B
CONTROL	8,75	4	0,27 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

5. PRESENCIA DE LINFOCITOS, MACROFA

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
5. PRESENCIA DE LINFOCITOS..	16	0,82	0,78	17,32	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,50	3	10,17	18,77	0,0001
GRUPO	30,50	3	10,17	18,77	0,0001
Error	6,50	12	0,54		
Total	37,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,54507

Error: 0,5417 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
100%	2,75	4	0,37 A
75%	3,00	4	0,37 A
50%	5,50	4	0,37 B
CONTROL	5,75	4	0,37 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

6. CONGESTION EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
6. CONGESTION EN MUCOSA OR..	16	sd	sd	sd	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,00	3	0,00	sd	sd
GRUPO	0,00	3	0,00	sd	sd
Error	0,00	12	0,00		
Total	0,00	15			

16. LPMN EN TEJIDO OSEO

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
16. LPMN EN TEJIDO OSEO	16	0,12	0,00	7,72	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,69	3	0,23	0,52	0,6741
GRUPO	0,69	3	0,23	0,52	0,6741
Error	5,25	12	0,44		
Total	5,94	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,38858

Error: 0,4375 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
100%	8,25	4	0,33 A
75%	8,50	4	0,33 A
CONTROL	8,75	4	0,33 A
50%	8,75	4	0,33 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

17. MIGRACION LEUCOSITARIA EN TEJID

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
17. MIGRACION LEUCOSITARIA..	16	0,88	0,84	8,75

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31,50	3	10,50	28,00	<0,0001
GRUPO	31,50	3	10,50	28,00	<0,0001
Error	4,50	12	0,38		
Total	36,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,28557

Error: 0,3750 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
100%	5,50	4	0,31 A
75%	5,75	4	0,31 A
50%	8,00	4	0,31 B
CONTROL	8,75	4	0,31 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

18. CAMBIOS VASCULARES EN TEJIDO OS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
18. CAMBIOS VASCULARES EN ..	16	0,79	0,73	33,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11,00	3	3,67	14,67	0,0003
GRUPO	11,00	3	3,67	14,67	0,0003
Error	3,00	12	0,25		
Total	14,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,04967

Error: 0,2500 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	0,25	4	0,25 A
50%	1,25	4	0,25 A B
75%	2,25	4	0,25 B
100%	2,25	4	0,25 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

19. HEMORRAGIA EN TEJIDO OSEO

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
19. HEMORRAGIA EN TEJIDO O..	16	0,87	0,84	9,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	36,50	3	12,17	26,55	<0,0001
GRUPO	36,50	3	12,17	26,55	<0,0001
Error	5,50	12	0,46		
Total	42,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,42125

Error: 0,4583 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
100%	5,50	4	0,34 A
75%	5,50	4	0,34 A
50%	8,25	4	0,34 B
CONTROL	8,75	4	0,34 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

20. PRESENCIA DE LINFOCITOS, MACROF

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
20. PRESENCIA DE LINFOCITO..	16	0,86	0,83	16,62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	21,50	3	7,17	24,57	<0,0001
GRUPO	21,50	3	7,17	24,57	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	25,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
-------	--------	---	------

100%	2,50	4	0,27	A
75%	2,50	4	0,27	A
50%	2,75	4	0,27	A
CONTROL	5,25	4	0,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

21. CONGESTION EN TEJIDO OSEO

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
21. CONGESTION EN TEJIDO O..	16	0,90	0,87	8,47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,25	3	10,08	34,57	<0,0001
GRUPO	30,25	3	10,08	34,57	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	33,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
100%	5,50	4	0,27	A
75%	5,50	4	0,27	A
50%	5,75	4	0,27	A
CONTROL	8,75	4	0,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

M.2.Análisis de la varianza y comparación de rangos múltiples de Tukey para análisis de respuesta tisular (proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 día posterior a la aplicación de extracto de *Ephedra americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en comparación con el grupo control.

7. PROLIFERACION DE FIBROBLASTOS EN

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
7. PROLIFERACION DE FIBROB..	16	0,87	0,84	8,91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31,25	3	10,42	27,78	<0,0001
GRUPO	31,25	3	10,42	27,78	<0,0001
Error	4,50	12	0,38		
Total	35,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,28557

Error: 0,3750 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	5,25	4	0,31	A
50%	5,75	4	0,31	A
75%	8,00	4	0,31	B
100%	8,50	4	0,31	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

8. SINTESIS Y ORGANIZACIÓN DE FIBRA

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
8. SINTESIS Y ORGANIZACIÓN..	16	0,88	0,85	8,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	22,00	3	7,33	29,33	<0,0001
GRUPO	22,00	3	7,33	29,33	<0,0001
Error	3,00	12	0,25		
Total	25,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,04967

Error: 0,2500 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	5,25	4	0,25	A
50%	5,75	4	0,25	A
100%	5,75	4	0,25	A
75%	8,25	4	0,25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

9. ANGIOGENESIS EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
9. ANGIOGENESIS EN MUCOSA ..	16	0,88	0,85	12,71	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	25,50	3	8,50	29,14	<0,0001
GRUPO	25,50	3	8,50	29,14	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	29,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	2,75	4	0,27	A
50%	3,25	4	0,27	A
75%	5,50	4	0,27	B
100%	5,50	4	0,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

10. PROLIFERACION Y MIGRACION DE CE

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
10. PROLIFERACION Y MIGRAC..	16	0,85	0,82	16,41	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	32,25	3	10,75	23,45	<0,0001
GRUPO	32,25	3	10,75	23,45	<0,0001
Error	5,50	12	0,46		
Total	37,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,42125

Error: 0,4583 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	2,25	4	0,34	A
50%	3,25	4	0,34	A
75%	5,50	4	0,34	B
100%	5,50	4	0,34	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

11. QUERATINIZACION EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
11. QUERATINIZACION EN MUC..	16	0,96	0,95	7,84	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	68,75	3	22,92	91,67	<0,0001
GRUPO	68,75	3	22,92	91,67	<0,0001
Error	3,00	12	0,25		
Total	71,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,04967

Error: 0,2500 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	3,25	4	0,25	A
50%	5,75	4	0,25	B
75%	8,25	4	0,25	C
100%	8,25	4	0,25	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

22. PROLIFERACION DE OSTEOCLASTOS Y

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
22. PROLIFERACION DE OSTEO..	16	0,87	0,84	33,31	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	22,69	3	7,56	27,92	<0,0001
GRUPO	22,69	3	7,56	27,92	<0,0001
Error	3,25	12	0,27		
Total	25,94	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,09253

Error: 0,2708 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	0,25	4	0,26 A
50%	0,50	4	0,26 A
75%	2,75	4	0,26 B
100%	2,75	4	0,26 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

23. DIFERENCIACION DE OSTEOCLASTOS,

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
23. DIFERENCIACION DE OSTE..	16	0,83	0,79	38,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	18,19	3	6,06	19,40	0,0001
GRUPO	18,19	3	6,06	19,40	0,0001
Error	3,75	12	0,31		
Total	21,94	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,17356

Error: 0,3125 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	0,25	4	0,28 A
50%	0,50	4	0,28 A
75%	2,50	4	0,28 B
100%	2,50	4	0,28 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

24. FORMACION DE TEJIDO OSTEOIDE EN

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24. FORMACION DE TEJIDO OS..	16	0,85	0,82	39,28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	20,25	3	6,75	23,14	<0,0001
GRUPO	20,25	3	6,75	23,14	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	23,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	0,25	4	0,27 A
50%	0,25	4	0,27 A
75%	2,50	4	0,27 B
100%	2,50	4	0,27 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

M.3. Análisis de la varianza y comparación de rangos múltiples de Tukey para análisis de respuesta tisular (remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) a 14 día posterior a la aplicación de extracto de *Ephedra americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en comparación con el grupo control.

12. VASCULARIZACION EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
12. VASCULARIZACION EN MUC..	16	0,91	0,89	11,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,75	3	10,25	41,00	<0,0001
GRUPO	30,75	3	10,25	41,00	<0,0001
Error	3,00	12	0,25		
Total	33,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,04967

Error: 0,2500 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	2,75	4	0,25 A
50%	3,25	4	0,25 A

75%	5,75	4	0,25	B
100%	5,75	4	0,25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

13. FIBROSIS EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
13. FIBROSIS EN MUCOSA ORA..	16	0,91	0,89	11,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,75	3	10,25	41,00	<0,0001
GRUPO	30,75	3	10,25	41,00	<0,0001
Error	3,00	12	0,25		
Total	33,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,04967

Error: 0,2500 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	2,75	4	0,25 A
50%	3,25	4	0,25 A
75%	5,75	4	0,25 B
100%	5,75	4	0,25 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

14. QUERATINOSIS EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
14. QUERATINOSIS EN MUCOSA..	16	0,80	0,75	11,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	14,25	3	4,75	16,29	0,0002
GRUPO	14,25	3	4,75	16,29	0,0002
Error	3,50	12	0,29		
Total	17,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	3,25	4	0,27 A
50%	5,25	4	0,27 B
75%	5,50	4	0,27 B
100%	5,50	4	0,27 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

15 CICATRIZACION EN MUCOSA ORAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
15 CICATRIZACION EN MUCOSA..	16	0,96	0,96	8,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	87,19	3	29,06	107,31	<0,0001
GRUPO	87,19	3	29,06	107,31	<0,0001
Error	3,25	12	0,27		
Total	90,44	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,09253

Error: 0,2708 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	3,25	4	0,26 A
50%	3,75	4	0,26 A
100%	7,75	4	0,26 B
75%	8,50	4	0,26 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

22. PROLIFERACION DE OSTEOCLASTOS Y

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
22. PROLIFERACION DE OSTEO..	16	0,80	0,75	11,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	14,25	3	4,75	16,29	0,0002
GRUPO	14,25	3	4,75	16,29	0,0002

Error 3,50 12 0,29
 Total 17,75 15

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	3,25	4	0,27 A
50%	5,25	4	0,27 B
75%	5,50	4	0,27 B
100%	5,50	4	0,27 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

23. DIFERENCIACION DE OSTEOCLASTOS,

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
23. DIFERENCIACION DE OSTEOCLASTOS	16	0,97	0,97	9,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	121,50	3	40,50	138,86	<0,0001
GRUPO	121,50	3	40,50	138,86	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	125,00	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	2,75	4	0,27 A
50%	3,25	4	0,27 A
75%	8,50	4	0,27 B
100%	8,50	4	0,27 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

24. FORMACION DE TEJIDO OSTEOIDE EN

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24. FORMACION DE TEJIDO OSTEOIDE EN	16	0,97	0,96	7,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	84,75	3	28,25	113,00	<0,0001
GRUPO	84,75	3	28,25	113,00	<0,0001
Error	3,00	12	0,25		
Total	87,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,04967

Error: 0,2500 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	3,25	4	0,25 A
50%	5,75	4	0,25 B
75%	8,75	4	0,25 C
100%	8,75	4	0,25 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

M.4. Análisis de la varianza y comparación de rangos múltiples de Tukey para análisis de respuesta tisular (remodelamiento en tejido óseo) a 1 día posterior a la aplicación de extracto de *Ephedra americana* a concentraciones 50%, 75% y 100% en comparación con el grupo control.

25. VASCULARIZACION EN TEJIDO OSEO

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
25. VASCULARIZACION EN TEJIDO OSEO	16	0,92	0,90	10,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	42,25	3	14,08	48,29	<0,0001
GRUPO	42,25	3	14,08	48,29	<0,0001
Error	3,50	12	0,29		
Total	45,75	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13377

Error: 0,2917 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.
CONTROL	3,50	4	0,27 A
50%	3,75	4	0,27 A

100%	5,75	4	0,27	B
75%	7,50	4	0,27	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

26. FIBROSIS EN TEJIDO OSEO (perios)

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
26. FIBROSIS EN TEJIDO OSE..	16	0,98	0,98	11,41	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	162,69	3	54,23	200,23	<0,0001
GRUPO	162,69	3	54,23	200,23	<0,0001
Error	3,25	12	0,27		
Total	165,94	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,09253

Error: 0,2708 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	0,25	4	0,26	A
50%	2,75	4	0,26	B
100%	7,50	4	0,26	C
75%	7,75	4	0,26	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

27. QUERATINOSIS EN TEJIDO OSEO

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
27. QUERATINOSIS EN TEJIDO..	16	0,91	0,89	8,06	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	39,19	3	13,06	41,80	<0,0001
GRUPO	39,19	3	13,06	41,80	<0,0001
Error	3,75	12	0,31		
Total	42,94	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,17356

Error: 0,3125 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	5,25	4	0,28	A
50%	5,50	4	0,28	A
75%	8,50	4	0,28	B
100%	8,50	4	0,28	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

28. REGENERACION EN TEJIDO OSEO

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
28. REGENERACION EN TEJIDO..	16	0,87	0,84	11,41	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	22,69	3	7,56	27,92	<0,0001
GRUPO	22,69	3	7,56	27,92	<0,0001
Error	3,25	12	0,27		
Total	25,94	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,09253

Error: 0,2708 gl: 12

GRUPO	Medias	n	E.E.	
CONTROL	3,25	4	0,26	A
50%	3,50	4	0,26	A
75%	5,75	4	0,26	B
100%	5,75	4	0,26	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO L. Galería de fotografías

Modelo experimental biológico (Cavia porcellus)



Anatomía de cavia porcellus(A) mandíbula y (B) maxilar



Muestra de *Ephedra americana*



Equipo extractor por arrastre de vapor



Obtención del extracto



Envasado del extracto



Procesamiento del extracto



Análisis de pH



Determinación de densidad



Análisis de ácidos grasos



Análisis de electrolito Ca^{++}



Control de peso del cobayo



Preparación de campo quirúrgico



Preparación de caja control



Preparación de cirujano



Preparación de modelo experimental



Asepsia de campo operatorio



Sedación de cobayo con acepromacin



Anestesia local en el cobayo



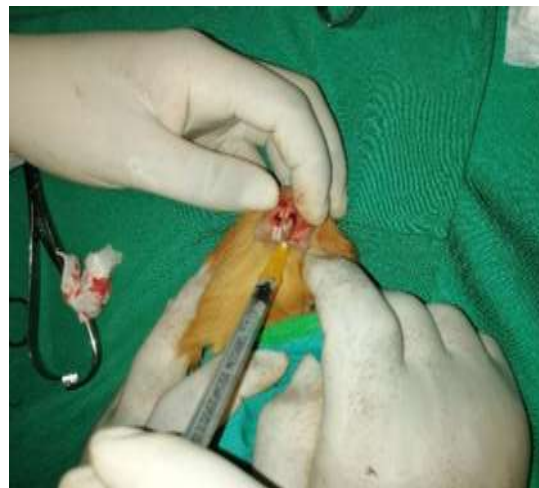
Incisión y levantamiento de colgajo



Osteotomía



Aplicación de extracto



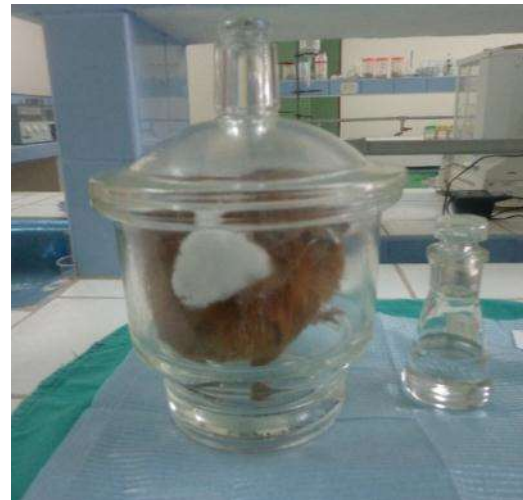
Sutura



Grupos control y experimental



Sacrificio del animal



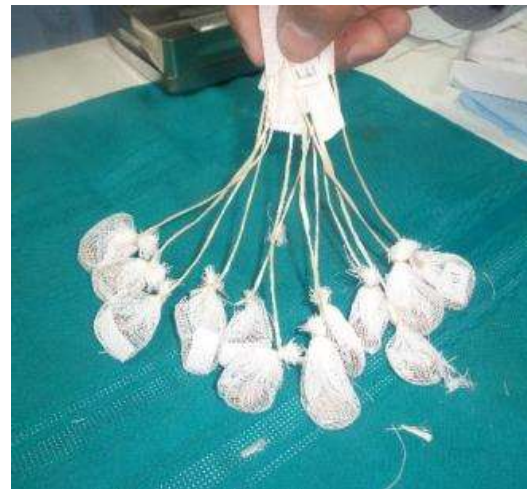
Obtencion de la muestra



Muestra en formol (10%)



Reducción de la muestra



Muestra en ácido nítrico (2%)



Lavado



Procesamiento de la muestra



Muestra en parafina



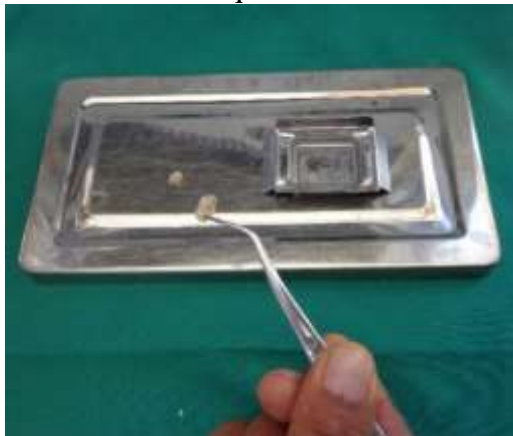
Muestra en parafina



Porta parafina



taqueado



Enfriado del taqueado



Rotulación del taqueado



Muestra en taco de parafina



Muestras en parafina



Muestra en micrótomó



Proceso de microtomía



Muestras en canastilla para tinción



Tincion Hematoxilina - eosina



Lectura e interpretacion de laminas

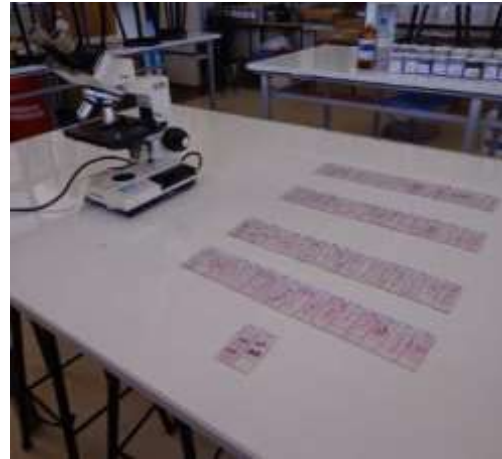


Figura 5. Histológica normal de mucosa oral y tejido óseo de Cavia porcellus.

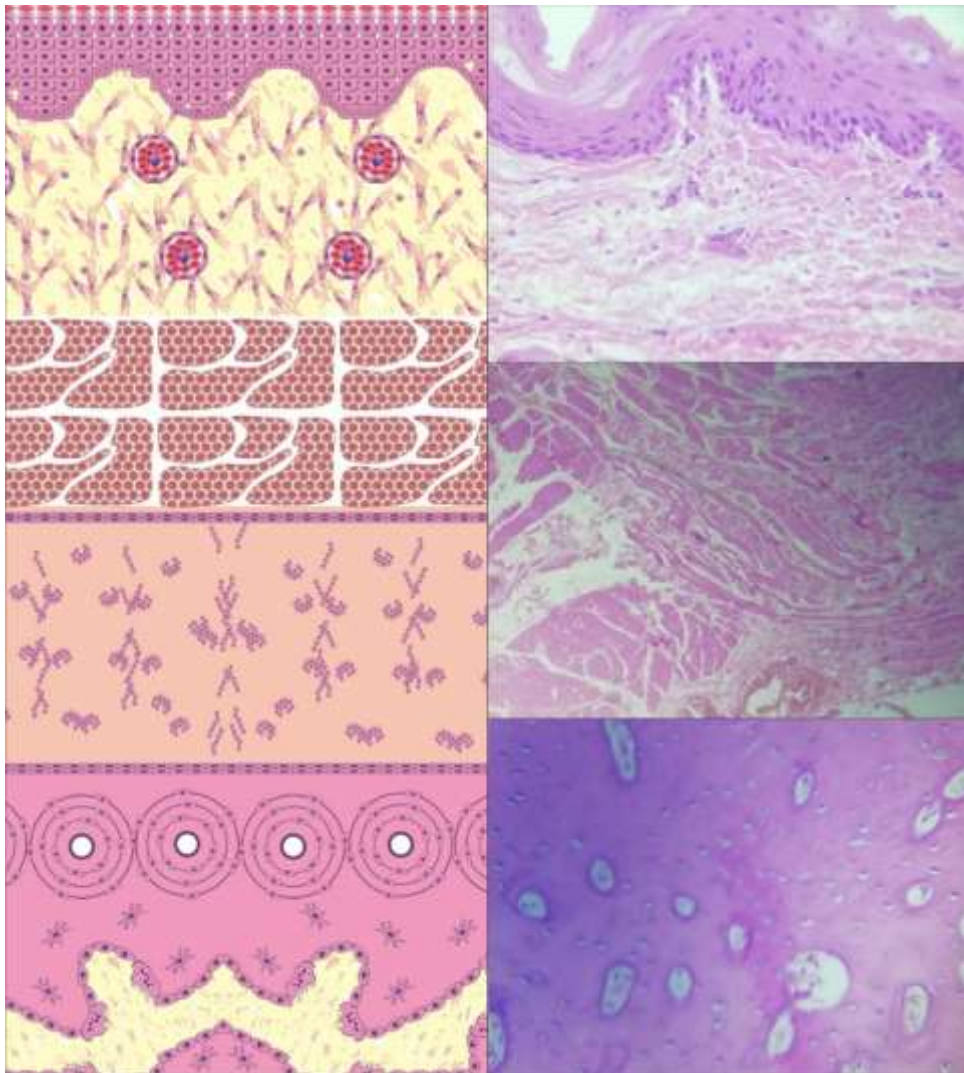


Figura 6. Reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo a 1 día posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentración de 100% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.

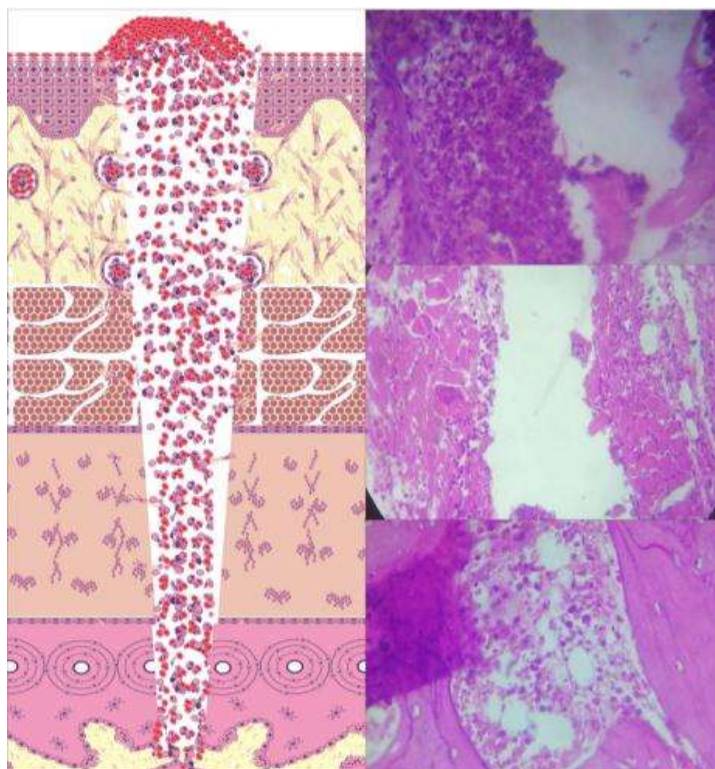


Figura 7. Reacción inflamatoria en mucosa oral y tejido óseo) a 1 día posterior en Grupo Control.

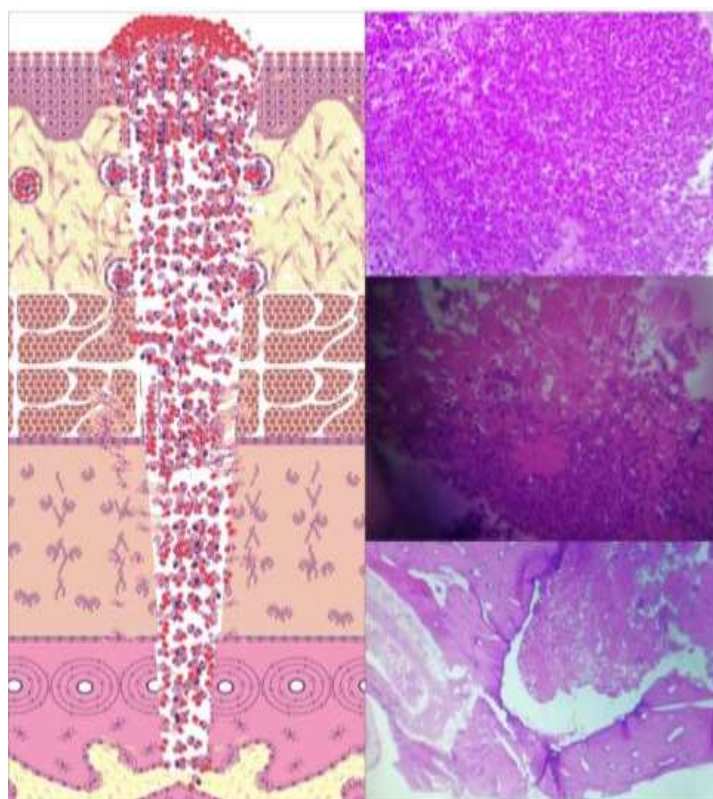


Figura 8. Proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) a 7 días posterior de la aplicación de extracto de *E. americana* a concentración de 75% en mucosa oral y tejido óseo de *C. porcellus*.

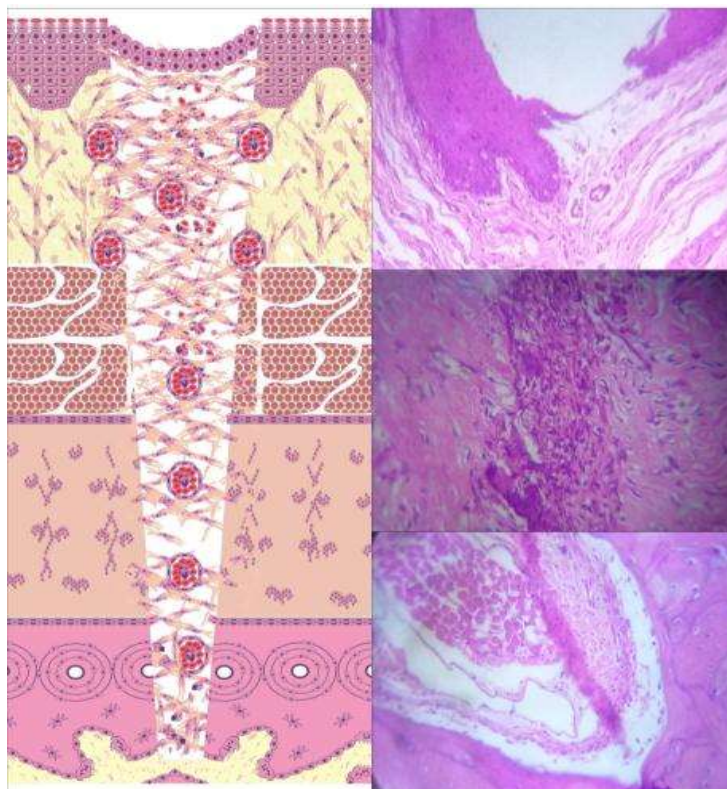


Figura 9. Proliferación celular en mucosa oral y tejido óseo) posterior a 7 días en Grupo Control.



Figura 10. Remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) a 14 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentración de 75% en mucosa oral y tejido óseo de C. porcellus.



Figura 11. Remodelamiento en mucosa oral y proliferación celular en tejido óseo) posterior a 14 días, en Grupo Control.

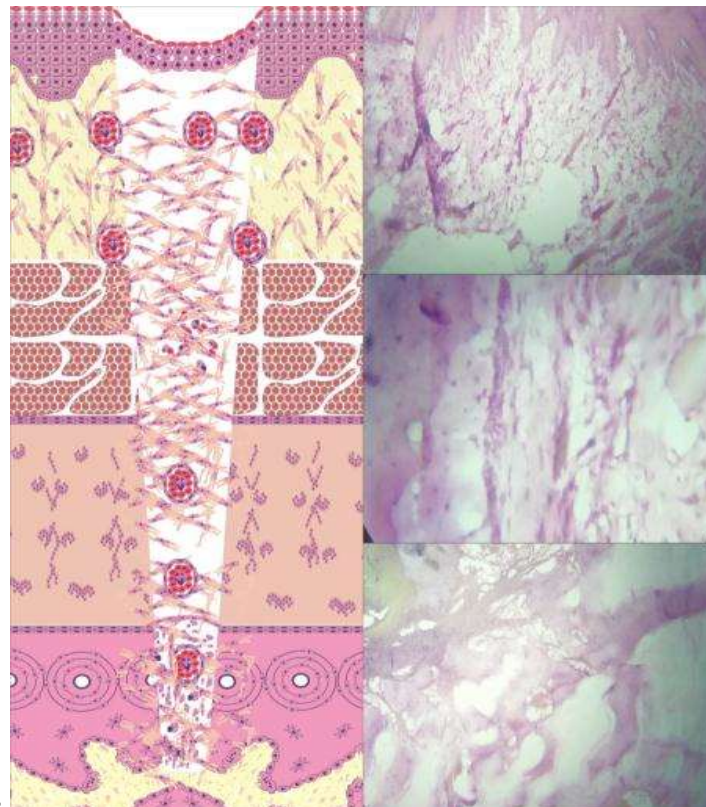


Figura 12. Remodelamiento en tejido óseo) a 28 días posterior de la aplicación de extracto de E. americana a concentraciones, 75% en tejido óseo de C. porcellus.

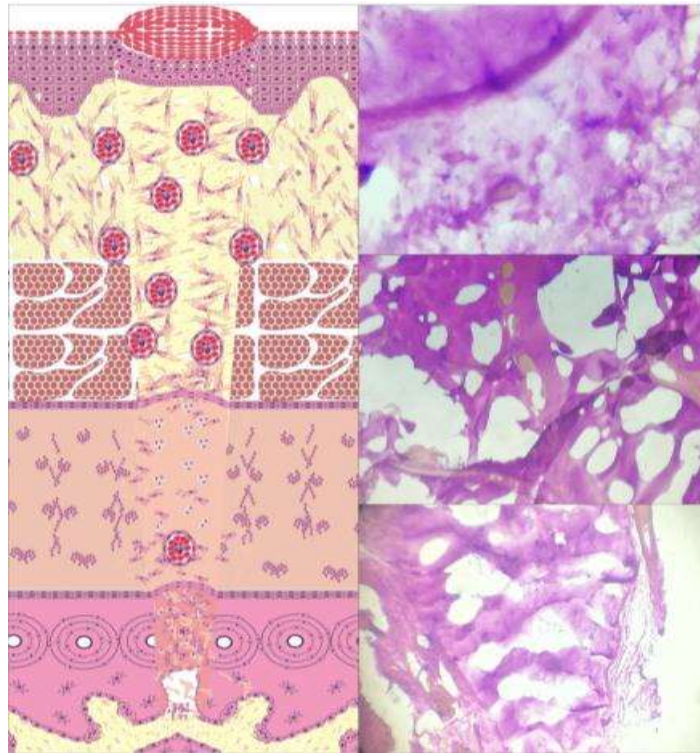


Figura 13. Remodelamiento en tejido óseo) posterior a 28 días en Grupo Control.

