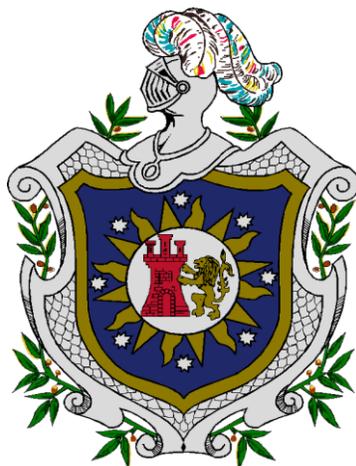


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA

RECINTO UNIVERSITARIO “RUBÉN DARÍO”

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS



TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA

“Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas en la Facultad de Ciencias Médicas de Julio-
Octubre 2012”

Autores:

Br María Fernanda Areas C.

Br. Ian Chriss Fitoria

Br. José Aníbal Matamoros

Tutor: Andrei Dvoynos PhD.

Fecha: 6 de mayo de 2015

TITULO

“Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas, Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012”

DEDICATORIA

A la Facultad de Ciencias Médicas, UNAN- Managua, por formarnos con un pensamiento crítico y científico, sobre todo al profesor Andrei Dvoynos quien nos guio en nuestros primeros pasos y no menos importante a nuestros padres por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo lo dedicamos a todas las personas que creyeron en nosotros, quienes nos enseñaron que no es necesario equipo de última tecnología para realizar una investigación, quienes nos enseñaron a innovar y transformar los procesos complejos en procesos sencillos, quienes nos enseñaron que la ciencia parte de usar lo que tenemos para modificar el medio en que vivimos.

OPINIÓN DEL TUTOR

Tengo a bien presentarles el trabajo monográfico “Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas en la Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012” Autores Brs. Ian Cris Fitorian, María Fernanda Areas, José Aníbal Matamoros, todos estudiantes de grado de la carrera de medicina de la Facultad de Ciencias Médicas.

Los autores del trabajo se destacaron por su espíritu innovador, crítico y analítico para resolver las diferentes circunstancias que se presentaron durante la realización de una investigación experimental, logrando de esta manera obtener resultados que con mayor inversión podrían llevarse a fases mayores para ensayos clínicos.

Se les felicita por su trabajo y se les insta a continuar desarrollando investigaciones para contribuir a mejorar la calidad de atención en el sistema nacional de salud.

Andrei Dvoynos. PhD.

Profesor titular facultad de Ciencias Medicas

UNAN-Managua

RESUMEN:

En una herida por trauma siempre hay un proceso inflamatorio, durante este proceso, simultáneamente se desencadena un proceso proteolítico para eliminar el tejido muerto y depositar el nuevo tejido, se propone acelerar este último utilizando una enzima proteolítica. Se analizó la existencia de las enzimas proteolíticas comercialmente disponibles y se comparó su actividad con la de látex de papaya que contiene altas concentraciones de una enzima proteolítica llamada papaína. Se concluyó que látex de papaya tiene varias ventajas importantes sobre las enzimas disponibles comercialmente. Se desarrolló método analítico de monitoreo de la actividad enzimática de látex de papaya, tanto como el método de su purificación. Se comparó la concentración de látex en distintos tejidos de *Carica papaya*, encontrando entre los resultados que las frutas son las fuentes más ricas en látex, y que el compuesto presenta estabilidad térmica y en medios con pH ácido. Con todo esto se logró concluir que la aplicación de un preparado de látex de *Carica papaya* en heridas por amputación quirúrgica de la cola de las ratas acelera el proceso de cicatrización, el grupo intervención en relación a los grupos control.

Palabra clave: Cicatrización, Látex, Compuesto

Contenido

TITULO	1
DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS	3
OPINIÓN DEL TUTOR	4
RESUMEN:	5
INTRODUCCIÓN	7
ANTECEDENTES	8
JUSTIFICACIÓN	10
OBJETIVOS:	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	12
HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN:	13
MARCO TEÓRICO	14
DISEÑO METODOLÓGICO	23
RESULTADOS	35
DISCUSIÓN	41
CONCLUSIONES:	47
RECOMENDACIONES	48
BIBLIOGRAFIA	49
ANEXOS	51

INTRODUCCIÓN

El conocimiento popular de los nicaragüenses es muy rico en la elaboración de remedios caseros utilizando extractos de plantas o animales para la superación de enfermedades que comúnmente llegan a afectar a la familia. Basados en este conocimiento empírico, la *Carica papaya* además de ser de amplia distribución de nuestro país, se le atribuyen muchas propiedades curativas sobre todo en su aplicación tópica para curación de heridas cutáneas no solo en nuestro país sino también en muchos países de la región (Helwit, Whittle, Bailey, & Weaber, 2000).

En Nicaragua, las heridas cutáneas debido a traumas son muy comunes y aún más comunes sus complicaciones, debido a esto se ve la necesidad de una alternativa terapéuticamente útil y de bajo costo para poder solucionar los problemas que comúnmente afectan a la población. El látex de *Carica papaya* ha demostrado actividad antimicrobiana (Dawkinns & Helwit, 2003), siendo esta característica muy beneficiosa para evitar complicaciones en el proceso de curación de heridas (Robins & Cotran, 2005).

El látex de *Carica papaya* contiene un amplio contenido de enzimas cisteína endopeptidasas, donde encontramos principalmente papaína, quimiopapaína A y B, otras endopeptidasas (Azarkan, El Mousaoui, Van Wuytswinkel, D., & Looze, 2003), inhibidores de proteasas, linamarasas y proteínas sin funciones aun conocidas (Azarkan, Wintjens, Looze, & Baeyens-Volant, 2004). Como se menciona anteriormente es conocida la actividad curativa del látex de *Carica papaya* (Gurung & Skalko-Basnet, 2009) por lo cual será aplicado un extracto procesado con alcohol etílico y aplicado en heridas por amputación quirúrgica en ratas de experimentación.

ANTECEDENTES

La planta de *Carica papaya* es conocida empíricamente por ciertas propiedades medicinales que han sido transmitidas de generación en generación en muchas de las culturas a nivel mundial. La propiedad medicinal más conocida y utilizada por muchas culturas es la habilidad de acelerar el proceso de cicatrización aplicando sobre úlceras cutáneas porciones del fruto de *Carica papaya* inmaduro (Cabrera, 2000).

A través de los años se ha venido demostrando científicamente las propiedades medicinales de *Carica papaya*. Uno de los primeros estudios que se han efectuado, se realizó en Jamaica en el año 2000 por Hewitt & col en donde se quería descubrir si los métodos terapéuticos que los pobladores de Jamaica aplicaban empíricamente para tratar las úlceras cutáneas tenía verdadera efectividad científica (Helwit, Whittle, Bailey, & Weaber, 2000).

Posteriormente Hewitt junto a Dawkins aplicaron un experimento en donde aplicaron trozos de frutas en diferentes estadios de madures, y también semillas, en medios de cultivo con diferentes tipos de microorganismos. Obtuvieron como resultados que los trozos de frutas independientemente su estadio de madurez y las semillas inhibían el crecimiento bacteriano es decir tenían efectos antimicrobianos contra: *B. cereus*, *E. coli*, *S. faecalis*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. flexneri*. (Dawkins & Hewitt, 2003).

En años posteriores, en la India se realizaron dos estudios similares, en el año 2007 en ratas con diabetes inducido, donde se le aplicó extractos de *Carica papaya* donde encontraron que en las que se les aplicó reducían un 77% el tamaño de la herida en comparación al 59% de los controles (nayak & Pinto, 2007).

En el año 2010 se elaboró un ensayo experimental cuyo objetivo era ser la primera fase de un ensayo clínico, donde se utilizaría un compuesto basado en papaína, la enzima proteolítica que se encuentra en altas concentraciones en la *Carica*

papaya donde utilizaron ratas Sprague-Dawley y encontraron que efectivamente aceleraba el proceso de cicatrización y presentó también efectos antimicrobianos (Ajlia & Majid, 2010).

Dentro de los estudios más recientes, se encontró uno donde se utilizaron las semillas de la *Carica papaya* y alcohol etílico donde se monitorizó con biomacadores de inflamación y cicatrización como es la hidroxiprolina a nivel plasmático encontrando que el grupo que se le administró este preparado presentó mejoría de la cicatrización (Nayak & Ramdeen, 2012).

En septiembre del año 2012 se realizó una revisión sistemática sobre el uso de la papaína en el proceso de cicatrización donde concluyen que no se ha realizado ningún ensayo clínico aleatorizado confiable, y la mayoría de los estudios que se encuentran son de tipo descriptivo, los estudios muestran la constante de que se aplica con buenos resultados y casi sin ningún efecto adverso a excepción de ardor o picor a la aplicación (Leite & de Oliveira, 2012).

JUSTIFICACIÓN

El proceso de cicatrización es un fenómeno complejo pero ordenado, en el cual la participación de enzimas proteolíticas juega un rol fundamental y tomando en cuenta que este proceso conforme aumenta la esperanza de vida al nacer y se desarrollan enfermedades crónicas se torna más complejo, surge la necesidad buscar alternativas económicamente viables y sostenibles que contribuyan a mejorar el proceso de cicatrización.

En el reino vegetal existen diferentes fuentes enzimáticas cuya especificidad hacia los sustratos es similar a la que presentan las enzimas que participan en el proceso de cicatrización y dado que podemos manipular las concentraciones y el momento en que estas inician su participación en el proceso de cicatrización se hace necesario estimar el beneficio real de estas al proceso de cicatrización y forma más adecuada de obtenerlas.

OBJETIVOS:

Objetivo general:

Demostrar la actividad cicatrizante de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* evaluado de manera experimental in vivo en ratas del genero *Wistar* con amputación de cola.

Objetivos específicos:

- Describir métodos utilizado en la recolección y conservación de látex de *Carica papaya*.
- Valorar la actividad enzimática del látex de *Carica papaya* utilizando la prueba de caseína modificada, comparándola con fuentes comerciales.
- Valorar la estabilidad del compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* en medios ácidos y diferentes grados temperaturas.
- Comparar actividad cicatrizante de compuesto farmacológico de base de látex de *Carica papaya* con Alcohol y sin tratamiento usando un modelo experimental con amputación de colas de ratas *Wistar*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Un problema de creciente en la población conforme la esperanza de vida al nacer aumenta es lo complicado que se torna el proceso de cicatrización, por lo cual tenemos la obligación de generar soluciones que mejoren el proceso de cicatrización, y dado que no existen ensayos clínicos humanos que demuestren que el uso de enzimas proteolíticas de origen vegetal mejora la cicatrización, por lo cual nos hemos planteado el siguiente problema de investigación:

¿Es posible demostrar la acción cicatrizante de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya*, en un modelo experimental in vivo en ratas *Wistar* con colas amputadas?

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN:

La aplicación de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* acelera el proceso de cicatrización de los grupos de experimentación.

MARCO TEÓRICO

Látex de *Carica papaya*.

Generalidades

Carica papaya, cuyas frutas son denominadas papayas o mamones, es originario de la zona noroeste de América del Sur, es una planta herbácea típicamente tropical que crece y produce frutos en lugares con gran insolación con temperaturas entre 22-28°C (Acuña, 2009). Estas características restringen el cultivo de esta fruta a la zona norte de Nicaragua, presentándose pequeñas plantaciones hogareñas en zonas con clima menos propicias.

Según Luis E. Acuña, Ingeniero Agrónomo de departamento frutal de INTA Montecarlo, "el papayo es un árbol que se caracteriza por poseer un tronco herbáceo, hueco y normalmente sin ramas, excepto en su parte superior, lo que hace recordar a las palmeras". Las hojas tienen lóbulos profundos, son palmeadas y se sostienen por medio de pecíolos largos y huecos que aparecen en el tallo, alcanzan hasta ochenta centímetros de longitud de los cuales casi medio metro los constituye el pecíolo.

Las flores salen de las axilas que forman el pecíolo y el tallo en número de tres a cinco. "Los arbustos de papaya tiene tres clases de flores diferentes: femeninas, masculinas y hermafroditas" (Chavez, 2001). En estado salvaje es una planta dioica, es decir, es decir que se encuentran árboles femeninos y árboles masculinos, sin embargo, en las especies cultivadas se han logrado conseguir árboles hermafroditas, esto los convierte en árboles muy curiosos que pueden cambiar de género rápidamente, ya sea por factores naturales o por manipulación del hombre.

"De las axilas de los papayos cuelgan los frutos, cada fruto puede llegar a los setenta centímetros de longitud y hasta los nueve kilos de peso" (Chavez, 2001), lo más normal en los mercados es encontrarnos con piezas de casi medio kilo o un kilo, con cáscara lisa, con un color verde amarillento, amarillo o anaranjado rojizo, con numerosas semillas en su interior de color negro, redondeadas u ovoides y encerradas en un arilo transparente.

Características del látex:

La composición del látex incluye proteínas, carbohidratos, vitaminas, calcio, potasio y fósforo considerándose con altas propiedades nutritivas, al igual que en su composición los frutos inmaduros tienen tal vez el más alto contenido de una enzima proteolítica conocida como enzima papaína muy utilizada actualmente en diferentes industrias a nivel mundial (Cabrera, 2000).

Entre los componentes enzimáticos que posee el látex están las enzimas proteolíticas como la papaína, que tiene la capacidad de digerir las proteínas de los alimentos, que se obtiene a partir del látex de la fruta verde de la papaya (*Carica-Papaya*) antes que comience su maduración (Cabrera, 2000).

El látex presenta un comportamiento homogéneo a través del tiempo, lo que es muy importante para su uso en extracción industrial. La densidad, el color, la materia seca, los sólidos solubles, el pH, la acidez y la actividad enzimática no muestran variaciones importantes en el tiempo. La actividad enzimática de látex es mayor en aquellos árboles con mayor número de frutos verdes, según análisis de correlaciones (Leslie V. Vidal, 2009).

Es de suponer que el látex será más abundante en unas variedades que otras contendrán más papaína que otras, lo que provoca que se considere a la *Carica papaya* como la variedad más importante pues posee mayor abundancia tanto de látex como de papaína. Los frutos tiernos contienen poca papaína en su jugo por ser muy acuosos.

La cantidad de látex presente en la fruta difieren de la cantidad encontrada en hojas y tallo. El látex de papaya es mínimo en el tallo, presentándose en mayores cantidades en las hojas sin embargo, las concentraciones enzimáticas en dichos sitios es mínima. Se conoce que el látex es abundante en la fruta y se clasifica a la fruta en dos categorías de acuerdo a su concentración enzimática: clase 1 (abundante concentración enzimática) que incluyen los frutos verdes mayores de

15 cm, y clase 2 (poca concentración enzimática) que incluyen los frutos maduros y pequeños (Leslie V. Vidal, 2009).

Extracción del látex de *Carica papaya*:

Es de conocimiento en la industria agrícola los beneficios del látex de *Carica papaya*, es por esto que se han fijado métodos estándar para la extracción, estos métodos se encuentran basados en la obtención de papaína, aislándola de los otros componentes del látex.

El proceso para la obtención de látex consiste en los siguientes pasos (E. Aguirre, 2005):

- Limpiar y desinfectar el área de trabajo y los utensilios a utilizar para el proceso de extracción del látex.
- Colocarse guantes plásticos desechables para evitar alguna irritación en la piel.
- Para la extracción del látex de papayas y de toronches se seleccionan frutos verdes y completamente desarrollados.
- Lavar las frutas de toronches y papayas que van a ser utilizadas para el proceso, secarlas bien con papel toalla para evitar contaminaciones.
- Pesar las frutas de toronches y papayas, para determinar el rendimiento del látex extraído una vez procesado.
- El fruto puede recibir varias incisiones repetidamente a intervalos de tres a cinco días, hasta que la aparición del látex comience a disminuir.
- Todas las incisiones deben ser hechas verticalmente y no más de 4 sangrías deben hacerse a un fruto al mismo tiempo, de 1 a 2 mm de espesor cada incisión.
- Se colocan recipientes bajo las frutas para la recepción del látex y su concentración. Estos pueden ser de diferentes materiales o formas.

Una vez extraído el látex se procede al procesamiento del mismo, el látex debe ser procesado inmediatamente después de ser extraído del fruto, ya que el objetivo principal es preservar la actividad proteolítica de la enzima.

Para la operación de secado debe transcurrir el menor tiempo posible después de la recolección, a fin de que la actividad del látex no disminuya. El secado se puede hacer de diferentes formas: a pleno sol, utilizando una estufa, un secador de cabina con bandejas, o cualquier otro tipo de horno o fuente de calor.

A continuación se detallan cada uno de los pasos a seguir en el procesamiento del látex con el secado con estufa (E. Aguirre, 2005):

- Prender la estufa a una temperatura de 50 °C.
- Pesar los platos petri.
- Una vez el látex extraído en un plato petri, colocarlo en la estufa por aproximadamente 3 a 4 horas dependiendo de la cantidad de látex.
- Chequear cada determinado tiempo el látex dentro de la estufa.
- En el momento en el que el látex no se pegue y este en forma granulada, esto quiere decir que el proceso de secado ha finalizado.
- Pesar el plato petri con el látex ya seco.
- Colocar el polvo en un mortero y molerlo, hasta que los gránulos de látex seco se pulvericen.
- Colocar el polvo en un recipiente de vidrio oscuro bien sellado.
- Colocar el recipiente en la refrigeradora, para un mejor mantenimiento de la enzima.

Los procesos citados corresponden a la actividad realizada en la industria de la extracción de papaína, se obtiene papaína en polvo solamente.

Papaína, generalidades:

La papaína es una enzima estable y de amplia especificidad, que le permite degradar proteínas de distinta naturaleza y en una extensión superior a otras enzimas proteolíticas, características que favorecen su empleo en preparaciones farmacéuticas (Larson, 2008) que se utilizan para descongestionar las vías respiratorias, en el tratamiento de lesiones traumáticas o inflamatorias, en la degradación de proteínas para consumo humano (Vega, 1997) y en la industria cosmética como suavizante dermatológico y revitalizador facial. En la industria alimentaria se utiliza como ablandador de carnes y clarificador de cerveza entre otros usos. La naturaleza no específica del grupo de proteasas contenidas en la papaína, que permite la digestión de diferentes sustratos, sumada a la facilidad de extracción y producción, explican la actual expansión del mercado de la papaína (Larson, 2008).

Las proteasas se refieren a un grupo de enzimas que tienen como función catalítica hidrolizar enlaces peptídicos de proteínas. Cada tipo de proteasa tiene la capacidad de hidrolizar una clase específica de enlaces peptídicos. En este caso la papaína (EC 3.4.22.2) de 343 residuos, es una proteína que pertenece al grupo de las cistein - proteasas (es decir las proteasas en cuyo sitio catalítico encontramos una cisteína), su peso molecular es de 33 KDa y su precursor de 38.9 KDa. Para que la enzima sea activa es necesario hidrolizar su precursor en un sitio determinado en este caso entre los residuos 19 y 133 (Rzychon, 2004).

La papaína, se caracteriza por ser un polvo amorfo, granuloso de color blanco, grisáceo o parduzco; ligeramente higroscópico e insoluble en agua y en la mayoría de solventes orgánicos. Es soluble en alcohol etílico y metílico.

La papaína bruta, contiene un poco de agua, glúcidos, ácidos orgánicos y una mezcla de enzimas, dónde destacan las denominadas proteasas que actúan rompiendo los enlaces peptídicos en cualquier lugar de la cadena peptídica en la

que se hallen situados (endopeptidasas). También contiene pequeñas cantidades de otras enzimas: papaína, lipasa y lisozima (enzima que rompe las paredes de las células bacterianas) (Chavez E. , 1998).

Los compuestos reductores intracelulares: Cisteína, Tiosulfato, compuestos azufrados y glutatión permiten mantener el grupo sulfhidrilo del centro catalítico de la enzima, así como los enlaces de los puentes disulfuros, corresponden a factores activadores de la papaína, mientras que los elementos oxidativos que tiene la capacidad de romper los enlaces de sulfuro como los iones metálicos (cadmio, hierro, zinc, plomo, cobre y cobalto) son propensos a desestabilizar la estructura de la papaína. Ejemplo que se observa en la solidificación del látex en el que se encuentra la papaína al contacto con el oxígeno ambiental, perdiendo así la actividad, cambiando su estructura y precipitándose para sumarse al material proteico sin actividad enzimática (Chavez E. , 1998).

Prueba de la caseína.

La prueba de la caseína o método de coagulación de leche (prueba de Balls and Hoover) es una prueba para la valoración de la actividad enzimática de la papaína utilizada en las distintas industrias que utilizan esta enzima. Hay diferentes métodos de comprobación de actividad de una enzima. Este método confía en la capacidad de la papaína en coagular la leche, los análisis se realizaron en 10 mililitros de leche deshidratada restituida, a diferentes concentraciones de papaína (0.0025, 0.005, 0.01 y 0.02) gramos por mililitro de ácido acético, una vez preparada la solución de papaína con ácido agregar a la leche (0.5, 1, 2, 4, 6 y 7) mililitros respectivamente (E. Aguirre, 2005).

Para la realización de este método se necesita del siguiente procedimiento: Esterilizar los instrumentos que se van a utilizar en el autoclave por 45 minutos, y luego colocarlos en la estufa a 120°C por 30 minutos para eliminar residuos de agua. Se deja enfriar a temperatura ambiente (28 ± 2 °C).

- Pesar 7.75 gramos de leche en polvo.

- Colocar 54 mililitros de agua en un vaso de precipitación.
- Diluir la leche en el agua y calentarla a 30°C en un baño de agua y mantener esta temperatura, en una cocineta eléctrica.
- Pesar las diferentes cantidades del polvo de látex seco (0.0025, 0.005, 0.01 y 0.02) gramos por mililitros de ácido acético.
- A una cantidad determinada de leche (10 mililitros), agregar las cantidades de la solución de látex seco diluido en ácido acético (0.5, 1, 2, 4, 6 y 7) mililitros.
- Mezclar el contenido a fondo y controlar el tiempo que demora para detectar la coagulación de la leche (formación de coágulos).
- El tiempo tomado para alcanzar esta etapa, de cuando el polvo de látex seco diluido en el ácido fue agregado a la leche, se registra para cada uno de los experimentos.
- Las diversas cantidades de muestra del polvo de látex seco usado deben dar una gama de los tiempos de coagulación entre 20 y 150 segundos para los resultados óptimos.

Cicatrización.

Es importante establecer las diferencias entre regeneración y curación. La regeneración implica la sustitución de componentes tisulares idénticos a aquellos extirpados o muertos. Por el contrario, la curación es una respuesta fibroproliferativa que sustituye el tejido previo por uno fibroso. Es un fenómeno complejo pero ordenado y que implica una serie de procesos. (Robins & Cotran, 2005).

Durante el proceso de cicatrización se presentan una serie de etapas en el tejido dañado, dentro de estas se encuentra la formación de tejido de granulación. El término procede de su aspecto rosado, blando y de apariencia granular en la superficie de heridas, pero son sus características histológicas lo realmente característico: la formación de vasos sanguíneos nuevos (angiogénesis) y la proliferación de fibroblastos. Estos nuevos vasos son permeables, permitiendo el

paso de hematíes y proteínas hacia el espacio extravascular. Por lo tanto, el nuevo tejido de granulación es por lo general edematoso (Robins & Cotran, 2005).

La curación consiste en proporciones variables de dos procesos distintos: la regeneración y el depósito de tejido fibroso, o formación de cicatriz. Las heridas superficiales, como las heridas cutáneas que tan solo dañan el epitelio, pueden curarse por regeneración epitelial. Las heridas cutáneas por incisión y escisión que dañan a la dermis se curan a través de la formación de cicatrices de colágeno(Andrades & Sepúlveda, 2004).

Proceso de cicatrización.

La reparación tisular implica una serie de pasos que siguen un orden establecido definen como:

Primeramente se da la inducción de un proceso inflamatorio en respuesta al daño inicial con eliminación del tejido dañado o muerto, seguido de esto se da la proliferación y migración de células parenquimatosas y de tejido conectivo, luego se da la formación de vasos sanguíneos nuevos (angiogénesis) y tejido de granulación, una vez realizado esto se pasa a la síntesis de proteínas de la MEC y depósito de colágeno, para finalizar con la remodelación tisular, contracción de la herida y adquisición de la resistencia de la herida (Robins & Cotran, 2005).

No todos estos sucesos ocurren en cada reacción. El proceso de reparación está influenciado por varios factores, incluyendo: El entorno del tejido y la extensión del daño tisular, la intensidad y la duración del estímulo, los trastornos que inhiben la reparación como la presencia de cuerpos extraños o riego sanguíneo inadecuado y enfermedades que inhiben la reparación (Duany, 2004).

Independientemente de estos factores, el proceso de reparación tisular tiene ciertas características básicas generales. El objetivo del proceso de reparación es restaurar el tejido a su estado original. La reacción inflamatoria desencadenada por la lesión contiene el daño, elimina el estímulo nocivo, extrae el tejido dañado e inicia el depósito de componentes de la MEC (Matriz extracelular) en el área traumática.

Algunos tejidos pueden reconstruirse de forma completa después del daño, como es el caso de la reparación ósea tras una fractura o la regeneración de la superficie epitelial en una herida cutánea. En el caso de los tejidos que son incapaces de una regeneración, la reparación consiste en el depósito de tejido conectivo lo que produce una cicatriz. Este término se emplea sobre todo en relación con la curación de heridas de la piel, pero también se utiliza para describir el reemplazo de células parenquimatosas por tejido conectivo (Robins & Cotran, 2005).

La reparación comienza precozmente en la inflamación. A veces, tan pronto como 24 horas después de la lesión, si no se ha producido la resolución, los fibroblastos y las células endoteliales vasculares comienzan a proliferar para formar un tipo de tejido que es el característico de la curación, denominado tejido de granulación.

Tipos de curación.

Clásicamente se describe la curación de las heridas cutáneas por primera o por segunda intención. Como citamos más adelante, esta distinción se basa en la naturaleza de la herida más que en el propio proceso de curación.

Curación por segunda intención (heridas con bordes separados).

Cuando existe una pérdida de células y tejidos más extensos, como ocurre en las heridas superficiales que producen amplios defectos, el proceso reparador es más complicado. La regeneración de células parenquimatosas no puede restaurar de forma completa la arquitectura original, y por lo tanto, se forma abundante tejido de granulación en los márgenes para completar la reparación. Esta forma de reparación se denomina unión secundaria o curación por segunda intención (Robins & Cotran, 2005).

DISEÑO METODOLÓGICO

Área de Estudio

El presente estudio fue realizado en las instalaciones del Bioterio SOCIEM ubicado en el costado norte de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, la cual se encuentra en Managua de la rotonda universitaria un kilómetro al sur, villa fontana. El Bioterio cuenta con un aproximado de 50 especímenes de *Rattus norvegicus* sub-especie Wistar, divididas en 7 jaulas especiales separadas por sexo y dos jaulas de maternidad.

Tipo de investigación

La presente investigación se define según el tiempo de ocurrencia de los hechos como Prospectiva, según el período y la secuencia del estudio es de tipo Longitudinal y según el análisis y alcance de los resultados es de tipo Experimental.

Universo

El universo de la Investigación consta de 50 ratas nacidas y criadas en las instalaciones del Bioterio SOCIEM.

Muestreo

Aleatorio por conveniencia, debido que se eligieron a las ratas que cumplían los criterios biológicos del experimento.

Tamaño de la muestra

La muestra consta de un total de 15 ratas que cumplían con todos los criterios de inclusión y se divide en tres grupos de 5 ratas cada grupo:

- Grupo I: grupo de ratas al que no se le aplicó nada en el sitio de amputación.
- Grupo II: grupo de ratas al que se le aplicó preparado de papaína en aerosol.
- Grupo III: grupo de ratas a las que se le aplicó el alcohol en aerosol.

Unidad de Análisis:

La unidad de análisis de la presente investigación, es el sujeto de experimentación (rata intervenida quirúrgicamente) que se le aplicó uno de los diferentes tipos de preparados farmacológico según el grupo ya definidos al que pertenece.

Criterios de Selección:

Criterios de inclusión

- Pertenecer a la especie *Rattus Novergicus*, sub-especie Wistar.
- Espécimen sano, nacido y criado en el Bioterio SOCIEM, bajo las normas internacionales de bioterios.
- Tener una edad de 3 meses.
- Ser de sexo masculino.
- Ser sometido al procedimiento estándar establecido para la intervención quirúrgica.
- No tener contacto con el resto de los especímenes.

Criterios de exclusión

- Espécimen que escape de su respectiva jaula antes o durante del tiempo del experimento.
- Ser manipulado por un sujeto extraño a la investigación.
- Al haber confusión al momento de aplicar el preparado farmacológico
- determinado según el grupo de experimentación.

Variables

Las variables de estudio fueron definidas en relación a cada uno de los objetivos específicos presentados anteriormente:

Variable para el objetivo 1: Describir método de recolección de látex de *Carica papaya*.

- Rendimiento

Variable para el objetivo 2: Valorar la actividad enzimática del látex de *Carica papaya* utilizando la prueba de caseína modificada, comparándola con fuentes comerciales

- Actividad enzimática

Variable para el objetivo 3: Valorar la estabilidad compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* en medios ácidos y diferentes grados temperaturas.

- Estabilidad enzimática.

Subvarialbe:

1. Estabilidad en medios ácidos.
2. Estabilidad térmica.

Variable para el objetivo 4: Comparar actividad cicatrizante de compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con Alcohol 70% y sin tratamiento usando un modelo experimental con amputación de colas de ratas *Wistar*

- Variable Independiente: Aplicación de Tratamiento
- Variables dependientes: Cicatrización
 - Subvariables:
 1. Inspección visual:
 - Costra
 - Inflamación
 - Tejido de Granulación
 - Infección

2. Inspección Histopatológica:

- Inflamación
- Tejido de granulación
- Fibrosis

Cruce de variables.

Para la comprensión de los datos obtenidos, es necesario hacer el cruce de las siguientes variables.

- Aplicación de Tratamiento- Presencia de Costra.
- Aplicación de Tratamiento- Presencia de Tejido de Granulación (inspección visual).
- Aplicación de Tratamiento- Presencia de Infección.
- Aplicación de tratamiento-Presencia de tejido de granulación (inspección histopatológica).
- Aplicación de tratamiento-Presencia de inflamación.
- Aplicación de tratamiento-Presencia de fibrosis.

Fuentes y obtención de la información.

La fuente de información de la presente investigación es Primaria, debido a que la información fue obtenida directamente del sujeto de investigación.

Técnicas e instrumento de recolección de la Información.

La información fue obtenida mediante el llenado de una ficha de evaluación realizada por un patólogo, Cabe mencionar que fue un estudio a Doble Ciego al momento de recolectar la información, debido a que el evaluador ni los experimentadores sabían a qué grupo pertenecía cada rata. Esto fue posible mediante la utilización de una codificación especial para separar los grupos y su respectivo tratamiento.

Proceso de extracción del látex:

El método utilizado consta de los siguientes pasos:

1. Selección de la fruta verde de 5 a 6 semanas, de 10 a 25 cm de largo y de 7 a 15cm.
2. Limpiar y desinfectar el área de trabajo y los utensilios a utilizar para el proceso de extracción del látex.
3. Utilizar recipientes plásticos esterilizados.
4. Colocarse guantes de látex desechables para evitar alguna irritación en la piel.
5. Lavar las frutas de papayas que van a ser utilizadas para el proceso, secarlas bien con papel toalla para evitar contaminaciones.
6. Pesar las frutas papaya una vez realizada la extracción, para determinar el rendimiento del látex extraído una vez procesado.
7. Realizar varias punzadas en la superficie de la fruta aun en el árbol a una profundidad menor a un centímetro de forma consecutiva.
8. Colocar un recipiente con alcohol etílico al 70% por debajo de la fruta para almacenar las gotas que se precipiten.
9. Se utiliza una proporción de 100 gotas de látex por cada 10 mililitros de alcohol al 70%.
10. Se centrifuga la muestra y se recoge el sobrenadante.
11. Se almacena el material obtenido en refrigeración.

Rendimiento del látex por fruto:

Se realizó la cuantificación del rendimiento de látex obtenida por frutos, de acuerdo a su tamaño y color, asignado para la clase 1 las características de

tamaño menor a 60 cm color verde y la clase 2 las características mayores a 60 cm color verde.

El método utilizado para el cálculo del rendimiento de látex por hectárea fue el siguiente:

- Se contabilizó el total de mililitros de látex que se obtienen de cada fruto del árbol de papaya.

Valoración de la actividad enzimática.

Prueba de caseína: método modificado.

El método de caseína se utilizó para comprobar la actividad del látex de *carica papaya*, el método estándar fue modificado para tratar de optimizar los recursos y el tiempo de la siguiente manera:

1. Preparar leche a temperatura ambiente.
2. Preparar solución de látex de *Carica papaya*.
3. Definir las diferentes cantidades de látex de *Carica papaya* a utilizar (0.3 mililitros).
4. A una cantidad de leche (10 mililitros) se le agregan la cantidad de látex de *Carica papaya* a evaluar.
5. Mezclar el contenido a fondo y registrar el tiempo que demora para detectar la coagulación de la leche (formación de coágulos).
6. El tiempo promedio para observar la reacción usando una muestra de látex de *Carica papaya* es de 5 segundos.

Estandarización de la prueba de caseína modificada:

- Recolección del látex de *Carica papaya* en alcohol al 90%
- Se prepararon diluciones al 20%, 40%, 60% de látex en alcohol.
- Se agregaron 0.3 ml de cada dilución a 1ml de leche.
- Luego se repitió la prueba aumentando la cantidad de sustrato, agregando 0.3 ml de cada disolución a 2 ml de leche.

- Cada una de las pruebas se repitió 10 veces y se compara con alcohol al 90% sin látex de *Carica papaya*.
- Se cronometra la actividad enzimática mediante la observación visual de la formación del cuajo por un evaluador ajeno al experimento (Dr.Fitorian)

Valoración de la actividad enzimática de las diferentes fuentes de enzimas proteolíticas.

Para la realización de la prueba de comparación de papaína comercial con extracto etanolico látex se utilizó el siguiente método:

- Se utilizó la papaína comercial en polvo y látex natural líquido.
- Se realizaron tres diferente disoluciones para la papaína comercial y el látex natural en donde se utilizó: alcohol etílico al 90%, agua, y una tercera sin disolvente.
- La solución de papaína comercial en cada muestra se utilizaron: 1 gramo de papaína en 10 ml de disolvente.
- La solución de látex natural en cada muestra se utilizaron: 1 ml de látex en 10 ml de disolvente.
- Para las soluciones sin disolventes, la papaína comercial se utilizó a razón de 1 gramo en diez ml de leche.
- Para la solución de látex natural sin disolvente, este fue extraído con el método de goteo, y posteriormente expuesto al ambiente natural en platos Petri, para separarlo del alcohol, obteniendo látex en forma de cristales el cual se pesó, para utilizar 1 gramo de látex natural cristalizado en 10 ml de leche.
- Se realizó la prueba de la caseína modificada 10 veces a cada una de las soluciones preparadas y se cronometra el tiempo de reacción de cada una de las prueba.
- También se realizaron las mismas pruebas con iguales parámetros de disolución a la enzima proteolítica Bromelina obtenida de manera comercial.

Valoración de la estabilidad del compuesto farmacológico a base de látex:

Prueba de pH

Se realizó evaluación de la actividad enzimática del extracto etanolico por medio de la prueba de la caseína modificada luego de ser sometido a concentraciones molares ascendentes de ácido clorhídrico (HCL), con el fin de exponer al preparado a pH bajos.

El método utilizado fue el siguiente:

1. Se prepararon soluciones de HCL a 0,1M; 0,2M; 0,3M; 0,4M; 0,5M.
2. Se agregó 1ml de cada solución de HCL a 5ml al extracto etanolico de látex.
3. Se midió el pH de la nueva solución.
4. Cada solución fue sometida la prueba de la caseína modificada, repitiendo el proceso 10 veces para cada una.
5. Se cronometro el tiempo de reacción.

Prueba de la estabilidad térmica:

Se realizó valoración de la actividad enzimática del extracto etanolico de látex posterior a ser sometido a temperaturas mayores a 50°C.

Para la realización de la prueba de temperatura se utilizó el siguiente método:

1. Se establecieron 6 valores de temperatura (50°, 60°, 70°, 75°, 80°, 85°)
2. Se preparó 10 tubos para valor de temperatura, cada uno contenía 0.3ml de látex preparado, los tubo se encontraban al vacío.
3. Se calentó 300ml de agua en beaker controlando la temperatura con termómetros de mercurio.
4. Se expuso durante 5 minutos (cronometrados) a los tubos conteniendo el extracto etanolico de látex, una vez obtenida la temperatura deseada.
5. Se retiraron los tubos de los beaker.

6. Se les dejó reposar durante 10min en gradillas para lograr nuevamente temperatura ambiente y no interferir en la cinética enzimática.
7. Se sometió a los 10 tubos de látex pertenecientes a cada valor de temperatura a la prueba de la caseína modificada.
8. Se cronometra el tiempo de reacción.

Experimento in vivo:

Formación de grupos:

Se seleccionaron a cinco ratas por cada grupo tomando en cuenta la equidad de colores, en cada grupo se encontró una rata café, blanca y blanca con negro, repitiéndose las de color blanco con negro y café.

Se formaron tres grupos a los que se les asignaron código de acuerdo al tratamiento:

- Grupo I: grupo de ratas al que no se le aplicó nada en el sitio de amputación.
- Grupo II: grupo de ratas al que se le aplicó el compuesto a base de látex, que para fines de redacción se denominara como: grupo compuesto farmacológico.
- Grupo III: grupo de ratas a las que se le aplicó alcohol.

Cada rata recibió un código por color permitiendo así hacer una valoración específica para cada rata por grupo.

Primera Intervención:

Se realizó intervención a un total de quince ratas, sometidas a un procedimiento estándar:

- Se aplicó medidas de asepsia: aplicación de betadina y clorexidina sobre la superficie de la cola a cortar.

- Anestesia: se aplicaron con jeringa de insulina 0.3 ml de lidocaína en los alrededores del sitio a intervenir de la cola de la rata.
- Proceso de corte: se utilizó tijera quirúrgica para cortar un total de dos centímetros de cola (contando desde el extremo distal hacia el extremo proximal).
- Se realizó la aplicación de los preparados de acuerdo al grupo de intervención (papaína, alcohol y ningún preparado).
- Se colocó venda gasa con microporo en el sitio intervenido.
- Se colocó a las ratas en jaulas de acuerdo al grupo pertenecientes adecuadas con medidas de asepsia y antisepsia.

Seguimiento:

Para la aplicación de los preparados a los grupos intervenidos se usó la metodología de doble ciego randomizado:

- Solamente una persona del grupo de investigadores conocía la distribución de los grupos intervenidos, por tanto ni las personas seleccionadas para el cuidado y alimentación de las ratas, ni los evaluadores del proceso de cicatrización conocían la codificación de los grupos.
- El grupo seleccionado para la aplicación del extracto etanólico de látex fue escogido aleatoriamente.
- Se aplicó cada 24 horas en el Bioterio SOCIEM de la Facultad de Ciencias Médicas.
- Se sometió a todas las ratas al mismo régimen alimenticio y se encontraron en las mismas condiciones.

Para la valoración objetiva de la herida se usó la siguiente metodología:

- De acuerdo a entrevistas realizadas a patólogos se incluyeron los siguientes criterios como bases para la valoración objetiva: inflamación, costra, tejido de granulación y presencia de infección.
- Se utilizó un método cuantitativo para valorar a dichos criterios, utilizando:

- * Positivo y negativo para indicar presencia o ausencia de la característica.
- * De ser positiva cada característica se clasifica en valores entre una cruz (+) y tres cruces (+++) para referirse a porcentaje de tejido que presenta dicha característica patológica, siendo una cruz el mínimo porcentaje, dos cruces representa el 50% y tres cruces representa el cien por ciento.
- La valoración objetiva fue realizada por un patólogo (Dr. Francisco Reyes), para reducir sesgo, y dicho evaluador no recibió información sobre los grupos a los que pertenecían las ratas evaluadas, de tal forma que el evaluador era “ciego” ante los grupos a los que pertenecían cada una de las ratas evaluadas.

Segunda intervención:

Se realizó una segunda intervención al séptimo día posterior a la primera intervención con un procedimiento standard a cada una de las ratas que cumplieron todo el proceso de aplicación de los extracto etanolico de látex de acuerdo a los grupos establecidos:

- Se realizó asepsia/antisepsia mediante la aplicación de betadina y clorhexidina en la zona de la cola a amputar.
- Se aplicaron 0.3 ml de lidocaína en la zona periférica al sitio del corte con jeringa de insulina.
- Se realiza corte mediante el uso de tijera quirúrgica de aproximadamente 2 cm de cola de cada una de las ratas.
- De forma inmediata se realizó la tintura con “Tinta China” de la zona a valorar da cada corte de cola mediante medios microscópicos.
- Se almacenaron los cortes de cola ya señalados con tinta china en recipientes con formalina al 10% para su transporte y posterior evaluación histopatológica.

Valoración Histopatológica:

- Se realizó la valoración histopatológica por el Dr. Velásquez, (médico patólogo que actualmente labora en la facultad de Ciencias Médicas).
- Se realizó entrega de los cortes ya conservados en formalina de forma inmediata luego del procedimiento.
- Se brindaron cada una de los cortes de colas en recipientes individuales señalados con números para identificar cada una de las ratas y los grupos a los que pertenecían, cabe recalcar que el valorador no conocía los grupos a los que pertenecía cada rata para evitar el “sesgo”.
- Se brindaron los resultados obtenidos de acuerdo a cada número de rata y se almacenaron en bases de datos donde se identificó a que grupo pertenecía cada rata.

Procesamiento y Análisis de la información

Los datos obtenidos fueron digitados en el paquete estadístico SPSS versión 19 y procesados en el mismo mediante tablas 2x2 para determinar RR de cada uno de los factores, con su respectivo IC al 95% y su prueba de hipótesis en este caso será utilizada la prueba de chi cuadrado para determinar su asociación. Y los datos presentados mediante el portal de presentaciones interactivas Prezi.

RESULTADOS

Rendimiento.

Los frutos clase 1 presentaron un rendimiento de látex mayor que la clase 2 (**tabla 1**), a su vez presentan una mayor actividad proteolítica, estos resultados pueden observarse en la **tabla 2**.

Comparación de látex de *Carica papaya* y papaína comercial:

En relación a la actividad proteolítica para las fuente BRADIA, en las diluciones con agua y en leche directamente no presento actividad, demostrando una actividad lenta para las dilución con alcohol, de igual manera para la fuente MAYA no hubo actividad en las diluciones con alcohol, ni agua, ni leche, el mismo comportamiento se obtuvo para la bromelina, cuando se midió la activa para utilizando látex como fuente enzimática se notó que la actividad en la diluciones con alcohol, agua y leche fue rápida, tomando en cuenta que se considera como rápido cuando se presenta actividad en un tiempo menor a los 5 segundos (**Tabla. 2**)

Estabilidad del compuesto de látex de *Carica papaya*:

Se evaluó la estabilidad de la acción enzimática del extracto etanolico de látex después de someterla a diferentes concentraciones de ácido clorhídrico, encontrándose pH que vario desde 1.47 hasta 3.45 y el extracto etanolico de látex este presento actividad aún después someterse a pH ácido, mostrando actividad para todas las concentraciones molares de HCL a las que se expuso (**tabla N°3**).

Con respecto a la temperatura encontramos que la actividad proteolítica se mantuvo se pudo observar solo con variaciones en el tiempo de reaccion las cuales fueron mas notables desde los 75 grados centigrados, pero es de resaltar que aún a temperaturas mayores a 85°C habia actividad proteolitica (**tabla N°4**) con disminución en el tiempo de acción de la enzima.

Experimentación in vivo (amputación de colas de ratas Wistar)

Inflamación:

En el grupo compuesto farmacológico de látex las ratas no desarrollaron inflamación severa, a partir del día 4 se encontró disminución de la inflamación en todas las ratas y el día 6 no se encontró inflamación en el 80% de las ratas. En el caso del grupo con alcohol se encontró notable inflamación en el 100% de las ratas que se mantuvo dentro de los márgenes de moderada y leve pero que persistió hasta el último día de evaluación sin disminuir. En el grupo sin aplicación se observó inflamación en el 100% de las ratas que persistió hasta el último día como inflamación leve, en 40% de las ratas se observó inflamación severa que persistió por dos días (día 2 y día 3) (**Tabla N°6**).

Costra

Se observó desarrollo de costra en todas las ratas pertenecientes al grupo compuesto farmacológico, que se mantuvo y fue disminuyendo a medida que era sustituida por el tejido de granulación. En el caso del grupo de alcohol se observa la presencia de costra en el 80% de las ratas, en el caso del grupo sin aplicación, se observó que el 20% de las ratas no desarrollaron costra en ninguna fase de la investigación dichas ratas presentaron un tiempo de inflamación moderada prolongado (**Tabla N°7**).

Tejido de granulación:

En el grupo compuesto farmacológico se observó el desarrollo estable y cronológico de tejido de granulación, en las ratas de este grupo se observó desarrollo máximo de este tejido en el día 4 y presentó disminución con la reparación tisular para el día 6. En el grupo alcohol se observó desarrollo amplio de tejido de granulación que llegó a cubrir hasta el 50% de la herida, sin embargo su crecimiento se encontró estancado durante los días 3 y 4 presentando su pico máximo en el día 6, esto asociado a la incidencia de infección y a la persistencia

de inflamación. En el grupo sin aplicación se encontró tejido de granulación desde el día 2 llegando este a su pico máximo desde el día 3 y encontrándose una disminución del mismo en el día 4 hasta el 6(**Tabla N°8**).

Infeción:

Fue apreciable la diferencia entre el grupo compuesto farmacológico y los otros grupos de experimentación. En el grupo alcohol el 80% de las ratas desarrollaron infección y presencia de secreciones purulentas que entorpecieron el proceso de cicatrización, en el grupo sin aplicación el 20% de las ratas presentaron infección asociada a inflamación severa y secreciones purulentas. En el grupo extracto etanolico no se observó infección en ninguna de las ratas ni presencia de secreciones purulentas.

Valoración Histopatológica

Inflamación

En cuanto a la inflamación observada en los cortes histológicos se obtuvo que el grupo que se le aplicó alcohol presento inflamación supurativa en un 80 % e inflamación fibrinosa en un 20 %(**Tabla N° 10**). El grupo que se le aplicó compuesto farmacológico presentó un 60% de inflamación fibrinosa y un 40% ya no presentaba inflamación (**Tabla N° 10**). El grupo sin intervención presentó un 60% de ratas sin inflamación y un 40% de inflamación supurativa (**Tabla N° 10**).

Fibrosis

Referido a la variable Fibrosis se encontró que el grupo alcohol el 100% de las ratas no tenía fibrosis al momento de examinar el corte histopatológico (**Tabla N°11**). Valorando al grupo compuesto farmacológico se encontró un 100% de las ratas presentaban fibrosis (**Tabla N° 11**). El grupo Sin intervención presentó un 40% de ratas con fibrosis y un 60% de ratas sin fibrosis (**Tabla N° 11**). Comparando con el grupo papaína se observa que en este grupo la aparición de fibrosis fue más temprana.

Tejido de Granulación

Se observa que en el grupo Alcohol presentó un 60 % de ratas con tejido de granulación y un 40% de las ratas no presentaron. El grupo compuesto farmacológico presenta un 40 % de ratas con tejido de granulación y un 60% de ratas sin tejido de granulación. El grupo Sin intervención presenta un 80% de ratas con tejido de granulación y un 20% de ratas sin tejido de granulación (**Tabla N° 12**).

Cruce de Variables

El presente estudio realizó cruce entre variables para el cálculo de RR en cada una de sus variables a analizar con sus respectivas pruebas estadísticas.

En las variables del experimento en la parte de inspección visual se realizaron con los resultados del día 6 de observación.

Experimento in vivo (Inspección visual)

Grupo – Inflamación

Cuando se realiza la comparación entre el compuesto farmacológico vs el grupo sin intervención se obtuvo un cálculo del $RR= 0.333$ (IC 95%= 0.05-2.21) (**Tabla N°13**).

En cuanto al grupo alcohol vs el grupo sin intervención se obtuvo el resultado de $RR= 1.333$ (IC 95%= 0.57-3.005) Esto demuestra que el uso de alcohol en las heridas quirúrgicas aumenta el riesgo de presentar inflamación (**Tabla N°14**).

Al compararse el grupo compuesto farmacológico vs el grupo alcohol se obtiene el resultado de $RR= 0.25$ (IC 95%= 0.04-1.52). Esto se interpreta que al aplicar papaína se reduce hasta un cuarto el riesgo de presentar inflamación (**Tabla N°15**).

Grupo- Costra

Al evaluar los resultados obtenidos del grupo compuesto farmacológico vs el grupo sin intervención se calculó un RR= 1 (IC 95% 0.36-2.7) lo cual expresa que no hay diferencia entre aplicar papaína o nada en la aparición de la costra (**Tabla N°16**).

Entre el grupo alcohol y el grupo sin intervención se calcula un RR= 0.6667 (IC 95%= 0.18-2.42) (**Tabla N°17**). Referido a la comparación del grupo que se aplicó extracto etanolico vs el que se le aplicó alcohol se calculó un RR= 1.5 (IC 95%= 0.41-5.45) (**Tabla N° 18**).

Valoración Histopatológica

Se realizó los procedimientos estadísticos para calcular RR y sus respectivos niveles de confianza a los resultados obtenidos de la valoración histopatológica de cada uno de los sujetos de experimentación.

Grupo- Inflamación

En cuanto a la variable inflamación según los grupos, comparando el grupo compuesto farmacológico vs el grupo sin intervención se obtuvo un RR= 1.5 (IC 95%= 0.41-5.45). (**Tabla N°19**). Este resultado determina que si bien es cierto presenta mayor riesgo de presentar inflamación, esta inflamación no es supurativa.

Cuando se comparó el grupo alcohol con el grupo sin intervención se obtiene un RR= 2.5 (IC 95% = 0.8-7.31) (**Tabla N° 20**). Aunque este tipo de inflamacion se caracteriza por la gran cantidad de tejido supurativo.

Al calcularlo entre los grupos compuesto farmacológico y alcohol se obtiene RR= 0.60 (IC 95%= 0.29-1.22) (**Tabla N° 20**) lo que demuestra que el uso de látex reduce el riesgo de presentar inflamación.

Grupo- Fibrosis

Al analizar la variable Fibrosis en entre los grupos compuesto farmacológico y grupo sin intervención, se obtiene RR= 1.66 (IC 95%= 0.81-3.40) (**Tabla N°22**). Con respecto a la comparación del grupo alcohol vs el grupo sin intervención se calculó RR= 0.40 (IC 95%= 0.13-1.17) (**Tabla N° 23**). Al analizar el RR para analizar el grupo compuesto farmacológico y el grupo alcohol no se logra obtener un resultado debido a que en ambos grupo hay datos de 0 por lo cual hace imposible un cálculo de RR u OR. (**Tabla N° 24**)

Grupo- Tejido de granulación

Valorando la variable Tejido de granulación comparando el grupo compuesto farmacológico y el grupo sin intervención se calculó RR= 1 (IC 95%= 0.5-1.8). Esto se traduce que no hay diferencia entre los dos grupos en cuanto a la aparición de tejido de granulación (**Tabla N° 25**).

Con respecto a al grupo alcohol y al grupo sin intervención se obtuvo un RR= 3 (IC 95%= 0.45-19.9) (**Tabla N° 26**)

Comparando el grupo compuesto farmacológico y el grupo alcohol se obtuvo un RR= 0.33 (IC 95%= 0.05-2.21) (**Tabla N° 27**)

DISCUSIÓN

Iniciaremos nuestro análisis enfocados al rendimiento donde fue evidente que a los frutos que pertenecen a la clase 1 mostraron un mayor rendimiento, por lo cual para la extracción del látex a utilizarse en el preparado farmacológico se decidió utilizar solamente el obtenido de frutas verdes con un tamaño de 60mm, de esta manera se garantizó un menor tiempo de trabajo en el proceso de extracción de la materia prima para la preparación del compuesto farmacológico.

Ahora bien, una vez que se obtuvo latex de papaya en un extracto etanólico, el cual fue llamado compuesto farmacológico, se sometió a prueba de la caseína en comparación con otras fuentes de enzimas proteolíticas y entre los distintos preparados de proteolíticos comercial (MAYA, BRADIA y BROMELINA) y el látex extraído y procesado por el equipo de investigación, se encontró que el látex presentaba una alta capacidad proteolítica reflejada en la prueba de caseína positiva, aun variando los solventes, sin embargo, al realizar la prueba a las distintas muestras de papaya comercial se encontró una actividad nula en las diferentes fuentes, excepto en BRADIA que presentó actividad positiva al doble de la concentración requeridas para presentar la misma actividad en relación al extracto etanólico de látex. En este punto donde se logró demostrar que nuestro compuesto presentaba actividad enzimática en comparación con otras fuentes enzimáticas y que al mismo tiempo obtenerlo era fácil se decide iniciar las siguientes fases que nos conduzcan hasta su aplicación en los grupos de experimentación.

A continuación centraremos nuestra discusión en la estabilidad del compuesto, es de resaltar que a pH bajos muchas enzimas proteolíticas se desnaturalizan, pero en el caso del compuesto a estudio a pesar de lograr concentraciones molares de ácido clorídrico de 0.5 molar la actividad enzimática era evidente, por lo cual se postula y que en látex existen sustancias que actúan como buffer, amortiguando el pH de las disoluciones y permitiendo de esta manera que las enzimas contenidas en el no se desnaturalicen evidenciado en a través de la formación del cuajo en la prueba de la caseína modificada, por lo cual sugerimos a futuros investigadores

realizar análisis cromatograficos para el estudio de este fenómeno que evitando la desnaturalización de enzimas en el látex.

De igual manera la estabilidad que presenta el compuesto frente a cambio de temperatura resulta de interes, pues a pesar de haber sobrepasado el punto medio para la desnaturalización proteica, el compuesto presento actividad incluso an temperaturas superiores a los 75 grados centigrados. Esto demuestra que el extracto etanólico de látex de *Carica papaya* es una fuente viable para su utilización como cicatrizante, pues su acción se mantiene estable a pesar de los cambios de pH, que son muy comunes en los procesos inflamatorios, y a las variaciones de temperatura, que pueden darse durante el proceso de almacenamiento y conservación del producto.

Ahora bien, una vez que se obtuvo un compuesto que con las propiedades enzimáticas adecuades para nuestro estudio se hizo una valoración clinica de los resultados sobre la cicatrizacion en los grupos de experimentacion se observó diferencias notables en el proceso de inflamación en el grupo extracto etanólico de látex en contraste con los otros grupos. Se logra observar que el grupo que se le aplicó el extracto etanólico de látex obtuvo mejores resultados que los otros dos grupos con respecto a la inflamación. Siendo el grupo al que se le aplicó alcohol etílico e que obtuvo los peores resultados en relacion a la inflamación.

Cabe resaltar que a pesar que el el grupo compuesto farmacológico presento inflamación esta no fue tan severa en comparación con los otros grupos, este punto se dicutira a mayor detalle posteriormente.

El desarrollo de la costra fue otras de la variables en la cuales el grupo compuesto farmacológico demostro que el desarrollo de costra tempranamente y a pesar de el grupo alcoholo tenia costra esta se caracteriza por perderse con facilidad, y dado a que esta característica de la aparición de la costra es necesaria para la hemostasia al momento inmediato de la herida y para la protección contra las infecciones (Dawkinns & Helwit, 2003), observando que el grupo que se le aplico látex no modificó las características de la costra es ideal para la aplicación

inmediata posterior a un trauma, en contrastes con el alcohol que según los resultados está totalmente contraindicado, en cambio el grupo sin aplicación la formación de la costra fue mas lentas, dicho de otra manera, el grupo compuesto farmacológico a pesar de tener alcohol como base la formación de la costra fue más rápida en comparación con los otros grupos.

De igual manera la granulación en la zona estudiada, se evidencia una buena acción promotora del compuesto farmacológico para la formación del tejido de granulación necesario para la reparación tisular (Robins & Cotran, 2005) por el contrario el grupo sin intervención presento una aparición mas rapida del mismo tejido. Esta diferencia entre la velocidad de con la que se forma el tejido de granulación podría deberse a la acción proteolítica de las enzimas del látex que pudo haber interferido en la consolidación del tejido de granulación, siendo este el caso se necesitarían más estudios para ver cuáles son los momentos óptimos para la aplicación del preparado para hacer una aparición del tejido de granulación más eficaz.

Continuando con la discusión de los resultados es de resaltar el efecto observado en el grupo compuesto farmacológico en el cual la incidencia de infección fue nula esto corresponde a que se ha demostrado que la papaína posee efectos antimicrobianos por su acción proteolítica en las paredes celulares de algunas bacterias (nayak & Pinto, 2007), a diferencia del grupo alcohol donde la incidencia de infección fue alta, esto podria deberse a la capacidad del alcohol para fijar bacterias, factor que no fue tomado en cuenta al momento de elegir un estabilizador de la actividad proteolitica del las enzimas del látex.

La valoración histopatológica, es uno de los puntos claves a discutir, pues es de gran importancia corroborar si los datos clinicos tienen un repaldo a nivel tisular, por lo iniciaremos a abordar todas las subvariables contenidas en este nivel, tomaremos como partida la inflamación, donde el grupo alcohol fue supurativa, esto indica una posible invasión microbiana o un estado inflamatorio tardío que ya no correspondería ser visto en el sexto día de curación de una herida (Andrades & Sepúlveda, 2004) grupo compuesto farmacológico, si bien aún presenta una

mayoría con inflamación esta es de tipo fibrinosa es la inflamación necesaria para el transporte de elementos formes para la formación de matriz extra celular, en comparación con el grupo alcohol que aún no llegaba a esta fase del proceso de cicatrización. (Robins & Cotran, 2005) Llama la atención que es el grupo sin intervencion que menos inflamación tiene pero la inflamación que posee es de tipo supurativa, en comparación al grupo al que se aplicó el compuesto esta no presentó inflamación supurativa lo que puede ser indicativo que la acción antimicrobiana de la papaína fue crucial para el proceso de cicatrización (Dawkinns & Helwit, 2003), pero que siguió presentado inflamación debido que el excipiente usado en el preparado fue a base de alcohol.

Con todo lo anterior al igual que en la valoración clinica, la inflamacion el los cortes histológicos se vio beneficiada en el grupo compuesto farmacológico.

El comportamiento de la variable fibrosis fue muy similar a las demas variables, es de resaltar que el grupo alcohol no se desarrollo fibrosis en ninguno de los miembros de la muestra, esto determina que el alcohol retrasa la aparición de fibrosis, proceso normal la fibrosis aparece antes del sexto día (Duany, 2004), de igual manera la formación de tejido fibrotico en el grupo sin intervención no fue homogenea, ahora bien en el grupo compuesto farmacológico la fibrosis se observo en todo los miembros del grupo, este resultado demuestra que utilizar el compuesto farmacológico, aumenta la aparición de tejido fibrotico en el tejido en curación y es la fibrosis a nivel celular el uno de los primeros pasos para la reparación tisular (Robins & Cotran, 2005).

El último punto a tomar en cuenta es la formación del tejido de granulación, donde nuevamente el grupo compuesto farmacológico fue el que menos incidencia presento de esta fenómeno, resaltamos nuevamente que esto se debe probablemente al efecto proteolitico de las enzimas del látex, por lo cual sugerimos en posteriores enzayos que el uso de enzimas proteoliticas se indique en los primeros dos o tres dias posterior al trauma.

Para continuar con el análisis de nuestros resultados se realizó una comparación entre variables usando el Riesgo Relativo e intervalos de confianza para lograr establecer una diferencia entre los tratamientos, cabe resaltar que debido al tamaño del grupo los valores de los intervalos de confianza están dispersos, por lo cual para hacer una inferencia con mayor peso estadístico, en posteriores estudios se aumentará el número de participante en cada grupo.

Cuando se compara el comportamiento de la inflamación en la valoración clínica en relación grupo que se aplicó el extracto etanólico contra el grupo sin intervención, se demostró que los grupos con compuesto farmacológico presentaron menor riesgo de presentar inflamación, de igual manera al compararlo con el grupo que se aplicó alcohol el comportamiento es similar, probablemente por el efecto que tienen las enzimas proteolíticas en el proceso de remodelación, y tomando en cuenta que el alcohol tiende a aumentar el proceso inflamatorio en relación con el grupo sin intervención podría inferirse que el efecto del látex de papaya supera los problemas que genera el estar diluido en un alcohol.

Se observa que el grupo que se le aplicó el látex de *Carica papaya* tiene un riesgo menor de presentar inflamación al día 6 lo que significa que la inflamación aguda del trauma, involuciona más rápido en los que se les aplicó látex de *Carica papaya* siendo un escenario ideal para la reparación del tejido (Andrades & Sepúlveda, 2004).

Ahora bien, a pesar de que no hay diferencia entre aplicar el compuesto farmacológico en relación al grupo que no se aplicó nada, queda en evidencia que la aplicación de alcohol es un factor en contra para la formación de costra, siendo esta una desventaja en el proceso de cicatrización, porque es necesaria la presencia de costra para evitar la hemorragia y la colonización bacteriana (Andrades & Sepúlveda, 2004) y al comparar el grupo compuesto farmacológico y el grupo alcohol, el riesgo de presentar costra es mayor en el primero, lo cual mejora la hemostasia en la primera fase del proceso de cicatrización (Robins & Cotran, 2005) de este modo, podemos sugerir que la aplicación del compuesto

farmacológico mejore el proceso de cicatrización garantizando una hemostasia más temprana.

En cuanto a la comparación de las variables valoradas a nivel histopatológicos el grupo compuesto farmacológico tiene mayor riesgo de presentar inflamación, aunque el tipo de inflamación predominante no es de carácter supurativo, sino dentro de los parámetros normales, probablemente mediado por el efecto proteolítico de las enzimas, que aceleraría el recambio de tejido necrótico (Ajlia & Majid, 2010) ,es interesante el hecho de que el grupo alcohol inflamación supurativa sea la que predomina, esto quiere decir que el alcohol provoca mayor daño a los tejidos y retrasa el proceso de cicatrización y no debería ser recomendado para su uso en heridas como culturalmente se ha venido utilizando.

De igual manera se observaron diferencias similares entre el grupo compuesto farmacológico y el grupo sin aplicación, aunque los datos no tienen relevancia estadística.

Cuando comparamos la variable fibrosis en el grupo compuesto farmacológico aumenta el riesgo de presentar fibrosis en relación al grupo sin aplicación. Esto demuestra que aplicar látex de *Carica papaya* disminuye el tiempo de aparición del tejido fibroso necesario para la reparación del tejido dañado (Duany, 2004). En cambio en grupo alcohol disminuye la aparición de tejido fibroso necesario para la reparación del tejido comparado con el grupo sin intervención eso puede aumentar las complicaciones en el proceso de cicatrización entre ellas prolongar el tiempo de curación y aumento del riesgo de infecciones secundarias la exposición del tejido. (Andrades & Sepúlveda, 2004), sin embargo ninguno de estos datos presentaron intervalos de confianza significativos.

En granulación cuanto al tejido de granulación, no hay datos significativos, que muestren diferencia entre los grupos de experimentación.

Con todos los datos anteriores se puede asegurar que el compuesto farmacológico mejora la cicatrización, aunque aún se necesitan más estudios con una muestra mayor, de esta manera los datos estadísticos serían más confiables.

CONCLUSIONES:

1. Se logró observar que los frutos que pertenecían a la clase 1 presentaban mayor rendimiento con el método descrito para su recolección.
2. Se demostró que hay actividad enzimática del compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya*, a menores concentraciones que las fuentes comerciales.
3. El compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya*, es estable a las altas temperaturas y niveles de pH ácido.
4. Se logró demostrar que la adición exógena de las enzimas proteolíticas de origen vegetal a través de la valoración clínica e histológica mejora el proceso de cicatrización en los grupos de experimentación incidiendo positivamente en la formación de fibrosis y disminuyendo tiempo de inflamación e infecciones.

RECOMENDACIONES

Al departamento de Ciencias Fisiológicas, area de farmacología de la Facultad de Ciencias Médicas, UNAN-Managua.

1. En base a los resultados obtenidos podemos recomendar pasar a la siguiente fase de ensayos clínicos, aumento la muestra y hacer énfasis en las concentraciones y tiempo óptimo para la aplicación del compuesto.
2. Cuantificar con métodos cromatográficos los compuestos activos del látex.
3. Usar datos obtenidos para formar personal capacitado para la adecuada manipulación de las plantas que serán usadas con en la biosprospección farmacológica y elaboración de fármacos.

BIBLIOGRAFIA

- Acuña, L. E. (2009). El cultivo de mamón "carica papaya". *INTA EEA Montecarlo*.
- Ajlia, S., & Majid, F. (2010). Efficacy of papain-based wound cleanser in promoting wound regeneration. *Pak J Biol Sci*, 596-603.
- Andrades, & Sepúlveda. (2004). Curación avanzada de heridas. *Rev. Chilena de Cirugía.*, 396-403.
- Azarkan, M., El Mousaoui, A., Van Wuytswinkel, D., D., D. G., & Looze, Y. (2003). Fractionation and purification of the enzymes stored in the latex of carica papaya. *Journal of chromatography*, 229-238.
- Azarkan, M., Wintjens, R., Looze, Y., & Baeyens-Volant, D. (2004). Detection of three wound-induced proteins in papaya latex. *Phytochemistry*, 225-234.
- Cabrera, C. (2000). *Plantas silvestres comestibles del sur de Ecuador*. Quito, Ecuador: ediciones Abya-Yala.
- Chavez. (2001). *fruticultura especial 3*. Ecuador: publicación Guayaquil.
- Chavez, E. (1998). *Enzimología*. Buenos Aires: Editorial Goudelias.
- Dawkins, G., & Helwit, H. (2003). Antibacterial effects of Carica papaya fruit on common wound organisms. *West Indian medical journal*, 290-292.
- Dawkins, G., & Hewitt, H. (Diciembre de 2003). Antibacterial effects of Carica papaya fruit on common wound organisms. *West Indian Medical Journal*, 290-292.
- Duany, D. J. (2004). HERIDAS. MÉTODOS DE TRATAMIENTO. *MEDISAN*, 33-42.

- E. Aguirre, P. C. (2005). "Extracción y Estudio Comparativo de las Enzimas Proteolíticas del Fruto Toronche (*Carica-Stipulata*) y de la Papaya (*Carica-Papaya*) y su Aplicación en la Industria Alimenticia". *fruticultura de Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción*, 14-26.
- Gurung, S., & Skalko-Basnet, N. (2009). Wound healing properties of *Carica papaya* latex: In vivo evaluation in mice burn model. *Journal of Ethnopharmacology*, 338-341.
- Helwit, H., Whittle, S., Bailey, E., & Weaber, S. (2000). Topical use of papaya in chronic skin ulcer therapy in Jamaica. *The west indian medical journal*, 32-33.
- Larson, S. y. (2008). Papain adulteration in 11-nor-Delta9-tetrahydrocannabinol- 9- . *J. Anal. Toxicol*, 438-443.
- Leite, A., & de Oliveira, B. (2012). Use and effectiveness of papain in the wound healing process: a systematic review. *Rev Gaucha Enferm*, 198-207.
- Leslie V. Vidal, V. L. (2009). Características Físico-Químicas del Látex de Papayuelo. *informacion tecnológica*, 93-103.
- Nayak, B., & Ramdeen, R. (2012). Wound-healing potential of an ethanol extract of *Carica papaya* (*Caricaceae*) seeds. *International Wound Journal*, 650-5.
- nayak, S., & Pinto. (2007). Wound healing activity of *Carica papaya* L. in experimentally induced diabetic rats. *Indian Journal of Experimental biology*, 739-43.
- Robins, & Cotran. (2005). *Patología estructural y funcional*. españa: Elsevier.
- Rzychon, M. (2004). Modes of inhibition of cysteine proteases. *Quarterly. Vol.51*, 861-873.
- Vega, M. (1997). Obtención purificación e inmovilización de papaína. Tesis Mg. Sc. Nutrición Humana,. *Inst.Nutr. Tecnol*.

ANEXOS

Anexo 1: instrumentos de recolección de información.

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-Managua

Ficha de recolección de datos para trabajo monográfico.

Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas, Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012.

1. Variable Rendimiento

Clase _____

Rendimiento por Fruto en gramos: _____

Recolector de la Información:

Fecha:

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-Managua

Ficha 2 de recolección de datos para trabajo monográfico.

Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas, Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012.

Activida Proteolítica.

1. Producto :

- a. BRADIA()
- b. MAYA ()
- c. BROMELINA
- d. LÁTEX

2. SOLUCIÓN

- a. En 10ml de agua ()
- b. En 10ml de alcohol ()
- c. En 5ml de leche ()

Presenta Actividad

- a. Repeteción 1: si () No()
- b. Repeteción 2: si () No()
- c. Repeteción 3: si () No()
- d. Repeteción 4: si () No()
- e. Repeteción 5: si () No()
- f. Repeteción 6: si () No()
- g. Repeteción 7: si () No()
- h. Repeteción 8: si () No()
- i. Repeteción 9: si () No()
- j. Repeteción 10: si () No()
- k. Repeteción 5: si () No()

Fecha:

Recolector de la Información.

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-Managua

Ficha 3 de recolección de datos para trabajo monográfico.

Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas, Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012.

Estabilidad enzimática prueba de pH bajo:

SOLUCIÓN HCL

- a. 0.1 molar ()
- b. 0.2 molar ()
- c. 0.3 molar ()
- d. 0.4 molar ()
- e. 0.5 molar ()

Presenta Actividad

- a. Repetición 1: si () No() pH___
- b. Repetición 2: si () No() pH___
- c. Repetición 3: si () No() pH___
- d. Repetición 4: si () No() pH___
- e. Repetición 5: si () No() pH___
- f. Repetición 6: si () No() pH___
- g. Repetición 7: si () No() pH___
- h. Repetición 8: si () No() pH___
- i. Repetición 9: si () No() pH___
- j. Repetición 10: si () No() pH___
- k. Repetición 5: si () No() pH___

Fecha:

Recolector de la Información:

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-Managua

Ficha 4 de recolección de datos para trabajo monográfico.

Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas, Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012.

Estabilidad enzimática prueba a variaciones de temperatura :

- a. 50 grados
- b. 60 grados
- c. 70 grados
- d. 75 grados
- e. 80 grados
- f. 85 grados

Velocidad de reacción en segundos

- a. Repetición 1:
- b. Repetición 2:
- c. Repetición 3:
- d. Repetición 4:
- e. Repetición 5:
- f. Repetición 6:
- g. Repetición 7:
- h. Repetición 8:
- i. Repetición 9:
- j. Repetición 10:

Fecha:

Recolector de la Información

Ficha 5 de recolección de datos para trabajo monográfico.

Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas, Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012.

Valoración clínica. Dr Francisco Reyes.

Grupo:

Código de Rata:

Día	Inflamación			
	sin inflamación	I. Leve	I. Moderada	I. Severa
1				
2				
3				
4				
6				
Desarrollo de costra				
Día	sin costra.	25% superficie	50% superficie	100% superficie
1				
2				
3				
4				
6				
Desarrollo de tejido de granulación				
Día	sin tejido	25% de superficie	50% de superficie	100% superficie
1				
2				
3				
4				
6				
Incidencia de Infección				
Día	con Infección		sin infección	
1				
2				
3				
4				
6				

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-Managua

Ficha 6 de recolección de datos para trabajo monográfico.

Elaboración de un compuesto farmacológico a base de látex de *Carica papaya* con actividad cicatrizante evaluada en modelo experimental in vivo en ratas *Wistar*, con amputación de colas, Facultad de Ciencias Médicas de Julio-Octubre 2012.

Valoración Histopatológicas. Dr Velezques.

Grupo:

Código de Rata:

Dia	Inflamación según clasificación histológica	
	sin inflamación supurativa	fibrinosa
7		
Incidencia de Fibrosis		
Dia	Presenta fibrosis	Ausencia de fibrosis
7		
Desarrollo de tejido de granulación		
Dia	Con tejido de Granulación	sin tejido de Granulación
7		

Anexo 2. Operacionalización de variables

VARIABLE	SUBVARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	VALOR	ESCALA
Rendimiento		Cantidad de gramos de látex obtenido por fruta	% de gramos de látex que se obtiene de la fruta de papaya.	> de 1 gramo = o >1 gramo	Cuantitativa Continúa.
Actividad enzimática		Valoración cualitativa de la actividad enzimática de los diferentes fuentes	Reacción de la prueba de la caseína.	1. presenta actividad 2. no presenta actividad	Nominal
Estabilidad enzimática	Estabilidad en pH ácidos	Capacidad de una enzima en catalizar una reacción posterior a ser sometida pH ácidos	Reacción de la prueba de la caseína.	1. presenta actividad 2. no presenta actividad	Nominal
	Estabilidad térmica	Capacidad de una enzima en catalizar una reacción posterior a ser sometida pH ácidos	Tiempo de reacción de prueba de caseína modificada	Abierta.	
Aplicación de tratamientos		Acción de aplicar un esquema terapéutico a las ratas intervenidas	Clave de Grupo	1. Compuesto farmacológico 2. Alcohol 3. Sin aplicación.	Nominal

		de acuerdo a su grupo.			
Cicatrización	Inspección visual	Respuesta del tejido vivo vascularizado a la lesión.		1.Sin inflamación 2.Leve 3.Moderada 4.Severa	Nominal
Cicatrización	Inspección visual	Formación de tapón plaquetario con depósito de tejido fibroso.		1.Sin costra 2.25% de superficie 3.50% de superficie 4.100% de superficie	Nominal
		Tejido con proliferación de vasos sanguíneos nuevos y fibroblastos.		1.Sin costra 2.25% de superficie 3.50% de superficie 4.100% de superficie	Nominal
		Indica la contaminación, con respuesta inmunológica y daño estructural de un hospedero, causada por un microorganismo o patógeno.		1.Sin infección 2.Con infección	Nominal
	Histopat	Presencia		1.Ausente	Nominal

	ológica	exudado y migración de linfocitos y macrófagos observados al microscopio		2.Fibrinosa 3.Supurativa	
		Acúmulos focales de macrófagos activados (granulomas) con aumento de volumen y aplanamiento celular observados al microscopio.		1.Sin Tejido de Granulación 2.Con Tejido de granulación	Nominal
		Depósito de matriz extra celular sin remodelación observada al microscopio en tejido dañado.		1.Sin Fibrosis 2.Con Fibrosis	Nominal

TITULO DEL CUADRO Y NUMERACIÓN

Anexo 3. Tablas.

Tabla N°1. Rendimiento de látex de acuerdo a tamaño del fruto.

Característica	Categoría		rendimiento de látex por papaya
	clase1	clase2	
Tamaño mm	menor a 60	mayor a 60	mayor a 1.45 gramos
Color	Verde	Verde	menor a 1 gramo

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 1.

Tabla N°2. Comparación de actividad proteolítica entre papaína comercial y látex extraído de *Carica papaya*.

papaína comercial vs látex		
PRODUCTO	SOLUCION	prueba caseína
BRADIA	1gr de bradia en 10ml de H2O	no presenta actividad
	1 gr de bradia en 10ml de alcohol	8:48 segundos para presentar grumos
	0.5gr de bradia en 5ml de leche	no presenta actividad
MAYA	1gr de maya en 10ml de alcohol	no presenta actividad
	1gr de maya en 10ml de H2O	no presenta actividad
	0.5gr de maya en 5ml de leche	no presenta actividad
BROMELINA	1gr de bromelina en 10ml de alcohol	no presenta actividad
	1gr de bromelina en 10ml de H2O	no presenta actividad
	0.5gr de bromelina en 5ml de leche	no presenta actividad
LÁTEX	1gr de látex en 10ml de agua	si presenta actividad
	1gr de látex en 10ml de alcohol	si presenta actividad
	0.5gr de látex en 5ml de leche	si presenta actividad

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 2.

Tabla N°3. Evaluación de la actividad enzimática del preparado de látex de *Carica papaya* a variaciones de PH ácido.

Prueba de PH ACIDO		
Solución	PH al agregar látex	Prueba de caseína
HCl 0.1M	3.05	presenta actividad
HCl 0.2M	2.21	presenta actividad
HCl 0.3M	3.65	presenta actividad
HCl 0.4M	4.46	presenta actividad
HCl 0.5M	1.47	presenta actividad

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 3

Tabla N°4. Evaluación de la actividad enzimática del preparado de látex de *Carica papaya* a diferentes temperaturas.

Prueba a variaciones de T°	
T°	tiempo promedio
50°C	02:53s
60°C	10:09s
70°C	36:34s
75°C	1:90:00s
80°C	06:49:00s
85°C	20:00:00s

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 4

Tablas de Experimento in vivo

Tabla N°6. Incidencia de inflamación en ratas de experimentación por día.

GRUPO	DIA	SIN INFLAMCION	LEV E	MODERAD A	SEVER A
Alcohol	día 1	0	3	2	0
	día 2	1	4	0	0
	día 3	1	1	3	0
	día 4	0	4	1	0
	día 6	1	2	2	0
Compuesto farmacológico	día 1	2	2	1	0
	día 2	0	4	1	0
	día 3	1	3	1	0
	día 4	3	2	0	0
	día 6	4	1	0	0
sin aplicación	día 1	0	2	3	0
	día 2	2	1	2	1
	día 3	3	1	0	1
	día 4	1	3	1	0
	día 6	2	3	0	0

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 5.

Tabla N°7. Desarrollo de costra por día en ratas de experimentación.

GRUPO	DIA	sin costra	25% superficie	50% superficie	100% superficie
Alcohol	1	1	4	0	0
	2	1	4	0	0
	3	2	3	0	0
	4	2	1	2	0
	6	3	1	1	0
Compuesto farmacológico	1	2	2	1	0
	2	0	1	0	0
	3	1	3	1	0
	4	1	2	2	0
	6	2	1	2	0
sin aplicación	1	1	3	1	0
	2	4	1	0	0
	3	3	2	0	0
	4	3	1	1	0
	6	2	2	1	0

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 5.

Tabla N°8. Desarrollo de tejido de granulación en ratas de experimentación.

GRUPO	Día	Sin tejido de granulación	25% superficie	50% superficie	100% superficie
Alcohol	1	5	0	0	0
	2	2	2	1	0
	3	2	1	2	0
	4	1	2	2	0
	6	0	1	3	0
Compuesto farmacológico	1	5	0	0	0
	2	4	1	0	0
	3	0	4	1	0
	4	0	3	2	0
	6	2	3	0	0
sin aplicación	1	5	0	0	0
	2	2	1	2	0
	3	2	1	2	0
	4	1	4	0	0
	6	4	1	0	0

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 5.

Tabla N°9. Incidencia de infección durante el proceso de cicatrización en las ratas de experimentación.

GRUPO	DIA	sin infección	con infección
Alcohol	día 1	5	0
	día 2	5	0
	día 3	5	0
	día 4	4	1
	día 6	4	1
Compuesto farmacológico	día 1	5	0
	día 2	5	0
	día 3	5	0
	día 4	5	0
	día 6	5	0
sin aplicación	día 1	5	0
	día 2	4	1
	día 3	4	1
	día 4	4	1
	día 6	5	0

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 5.

Tablas de Valoración Histopatológica

Tabla N°10. Incidencia de Inflamación según su clasificación histológica

Grupo	Sin inflamación	Inflamación Supurativa	inflamación fibrinosa	Total
Alcohol	0	4	1	5
Compuesto farmacológico	2	0	3	5
Sin intervención	3	2	0	5

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 6.

Tabla N°11. Incidencia de Fibrosis según valoración histológica

Grupo	Presencia de Fibrosis	Ausencia de Fibrosis	Total
Alcohol	0	5	5
Compuesto farmacológico	5	0	5
Sin intervención	3	2	5

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha 6.

Tabla N°12. Incidencia de Tejido de granulación según valoración histológica

Grupo	Tejido de Granulación	Sin tejido de Granulación	Total
Alcohol	3	2	5
Compuesto farmacológico	2	3	5
Sin intervención	4	1	5

Fuente: Recolección de datos mediante experimento. Ficha

Tablas de Análisis Estadísticos

Inspección visual

Cruce Grupo – inflamación

En las tablas de análisis estadístico se usó el nombre papaina en el cuadro como sustituto de compuesto farmacológico por fines estéticos y de espacio.

Tabla N°13. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Sin intervención variable Inflamación

Inflamación: Compuesto farmacológico Vs Sin Intervención			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	1	4	5
Sin intervención	3	2	5
TOTAL	4	6	10
RR: 0.33 IC 95% 0.5-2.21			

Fuente de tabla 6

Tabla N°14. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Alcohol vs grupo Sin intervención variable Inflamación

Inflamación: Alcohol Vs Sin Intervención			
Grupo	Si	No	TOTAL
Alcohol	4	1	5
Sin intervención	3	2	5
TOTAL	7	3	10
RR 1.33. IC 95% 0.57-3.08			

Fuente de tabla 6

Tabla N°15: Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs Alcohol variable Inflamación

Inflamación: compuesto Farmacológico Vs Alcohol			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	1	4	5
Alcohol	4	1	5
TOTAL	5	5	10
RR:025 IC 95%: 0.04-1.5			

Fuente de tabla 6

Cruce Grupo – Costra

Tabla N°16. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Sin intervención variable Costra

Costra: Compuesto Farmacológico Vs Sin Intervención			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	3	2	5
Sin intervención	3	2	5
TOTAL	6	4	10
RR: 1 IC 95% 0.3-2.75			

Fuente de tabla 7

Tabla N°17. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Alcohol vs grupo Sin intervención variable Costra.

Costra: Alcohol Vs Sin Intervención			
Grupo	Si	No	TOTAL
Alcohol	2	3	5
Sin intervención	3	2	5
TOTAL	5	5	10
RR: 0.66 IC 95% 0.18-2.42			

Fuente de tabla 7

Tabla N°18. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Alcohol variable Costra

Costra: Compuesto Farmacológico Vs Alcohol			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	3	2	5
Alcohol	2	3	5
TOTAL	5	5	10
RR 1.5 IC 95% 0.4 -5.4			

Fuente de tabla 7

Valoración Histopatológica

Cruce Grupo- Inflamación

Tabla N°19. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Sin intervención variable Inflamación

Inflamación: Compuesto Farmacológico Vs Sin Intervención			
Grupo	Si	No	total
Papaína	3	2	5
Sin intervenc	2	3	5
TOTAL	5	5	10
RR 1.5 IC 95% 0.5-5.4			

Fuente de tabla 10

Tabla N°20. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Alcohol vs grupo Sin intervención variable Inflamación

Inflamación: Alcohol Vs Sin Intervencion			
Grupo	Si	No	RR
Alcohol	5	0	5
Sin intervenc	2	3	5
TOTAL	7	3	10
RR 2.5 IC 95% 0.8-0.3			

Fuente de tabla 10

Tabla N°21. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Alcohol variable Inflamación.

Inflamación: Compuesto Farmacológico Vs Alcohol			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	3	2	5
Alcohol	5	0	5
TOTAL	8	2	10
RR: 0.6 IC 95% 0.2-1.2			

Fuente de tabla 10

Tabla N°22. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Sin intervención variable Fibrosis.

Fibrosis: Compuesto Farmacológico vs Sin intervención			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	5	0	5
Sin intervenc	3	2	5
TOTAL	8	2	10
RR 1.66 IC 95% 0.8-3.4			

Fuente de tabla 11

Tabla N°23. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Alcohol vs grupo Sin intervención variable Fibrosis.

Fibrosis:Sin intervención vs Alcohol			
Grupo	Si	No	TOTAL
Sin intervenc	2	3	5
Alcohol	5	0	5
TOTAL	7	3	10
RR 0.4 IC 95% 0.1-1.1			

Fuente de tabla 11

Tabla N°24. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Alcohol variable Fibrosis.

Fibrosis: Compuesto farmacológico vs Alcohol			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	5	0	5
Alcohol	0	5	5
TOTAL	5	5	10
RR no definida IC 95% no definido			

Fuente de tabla 11

Cruce Grupo- Tejido de granulación

Tabla N°25. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Sin intervención variable Tejido de granulación.

Granulación: compuesto farmacológico vs Sin intervención			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	4	1	5
Sin intervenc	4	1	5
TOTAL	8	2	10
RR 1 IC 95% 0.5-1.8			

Fuente de tabla 12

Tabla N°26. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Alcohol vs grupo Sin intervención variable Tejido de granulación.

Tejido de Granulación: Alcohol vs Sin intervención			
Grupo	Si	No	RR
Alcohol	3	2	5
Sin intervenci	1	4	5
RR 3 IC 95% 0.4-19.2			

Fuente de tabla 12

Tabla N°27. Tabla 2x2 para cálculo de RR grupo Compuesto Farmacológico vs grupo Alcohol variable Tejido de granulación.

Tejido de Granulación: Compuesto Farmacológico Vs Alcohol			
Grupo	Si	No	TOTAL
Papaína	1	4	5
Alcohol	3	2	5
TOTAL	4	6	10
RR 0.33 IC 95% 0.05-2.21			

Fuente de tabla 12

Anexo 4. Imágenes de la investigación.



Figura 1.
Muestra la formación del cuajo cuando se somete a la prueba de la caseína. Es esta imagen se uso el compuesto farmacológico diluido en alcohol.

10-07-12



Figura 2. Imagen de la prueba de la caseína negativa. Al aplicar Maya en una dilución en alcohol.

10-07-12



Figura 3. Se muestran tubos de ensayo, con prueba de caseina positiva, posterior a someter el compuesto farmacológico a temperatura de 80 grados centigrados 20-07-12

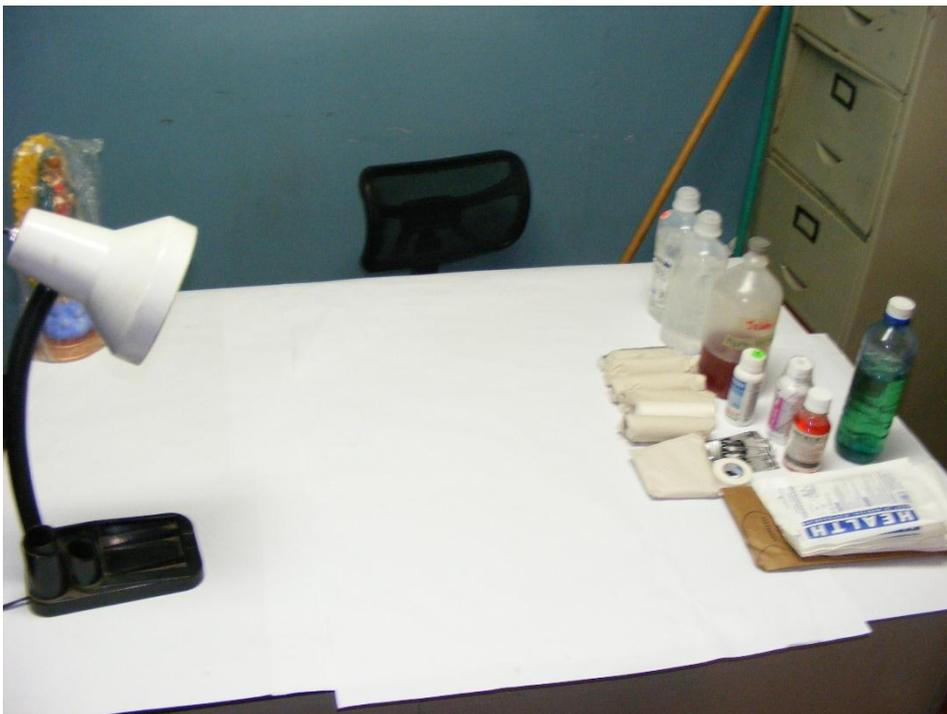


Figura 4. Mesa de trabajo donde se realizo la amputación de las colas de ratas. 29-07-14



Figura 5. Se aplica anestesia local previa amputación de colas.

29-07-12



Figura 6. Se muestra, la aplicación de anestesia local en cola de la rata.

29-07-12



Figura 7. Se observa la amputación de la cola de rata.

29-07-12



Figura 8. Se observa la cola de la rata en el post quirurgico inmediato.

29-07-12



Figura 9. Se observa a una rata del grupo alcohol, en el postquirurgico inmediato, donde es evidente el sangrado a nivel del sitio quirurgico

29-07-12

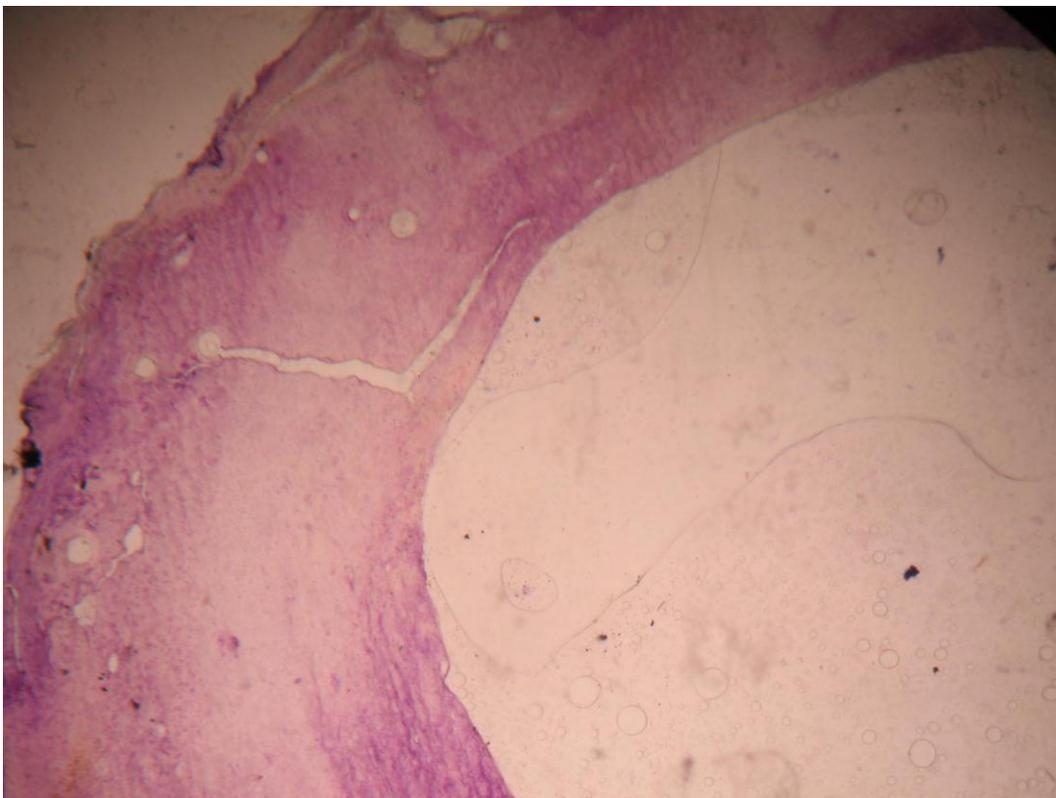


Figura 10. Se observa corte histológico con abundante formación de costra. Foto pertenece al grupo Compuesto farmacológico

05-08-12

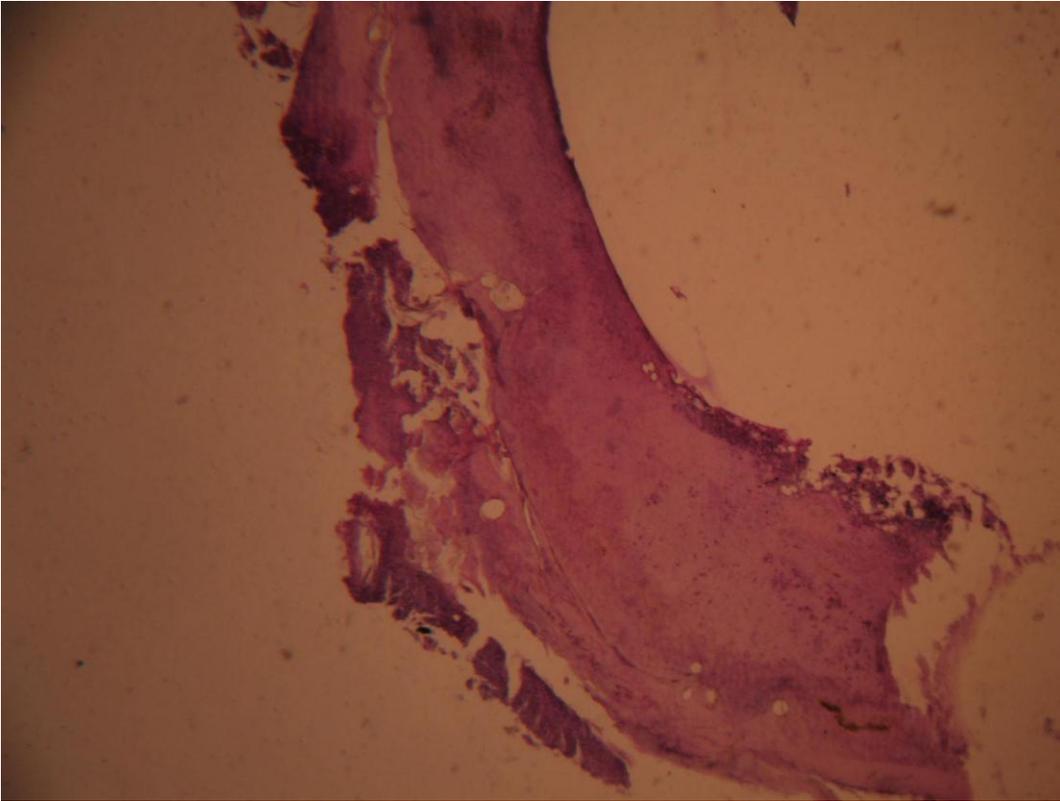


Figura 11. Se observa corte histológico con reacción inflatoria no supurativa, grupo compuesto farmacológico

05-08-12

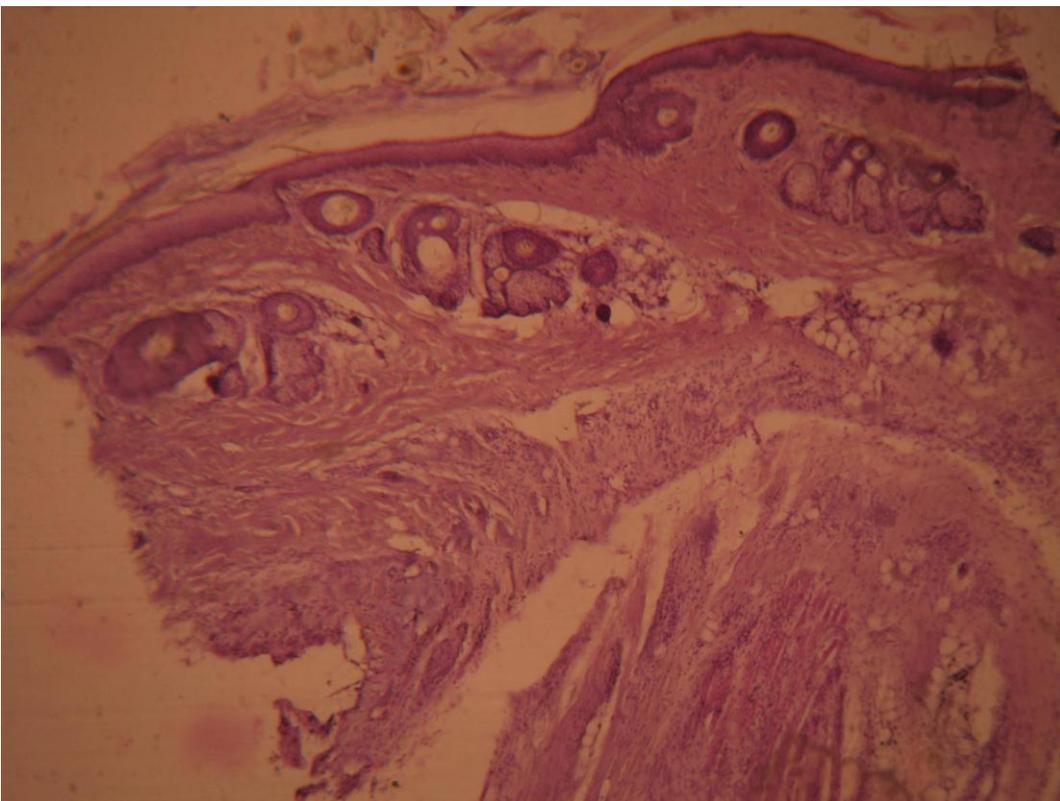


Figura 12. Muestra una imagen ampliada de la figura 11, donde es mas evidente la reacción inflamatoria.

05-08-12

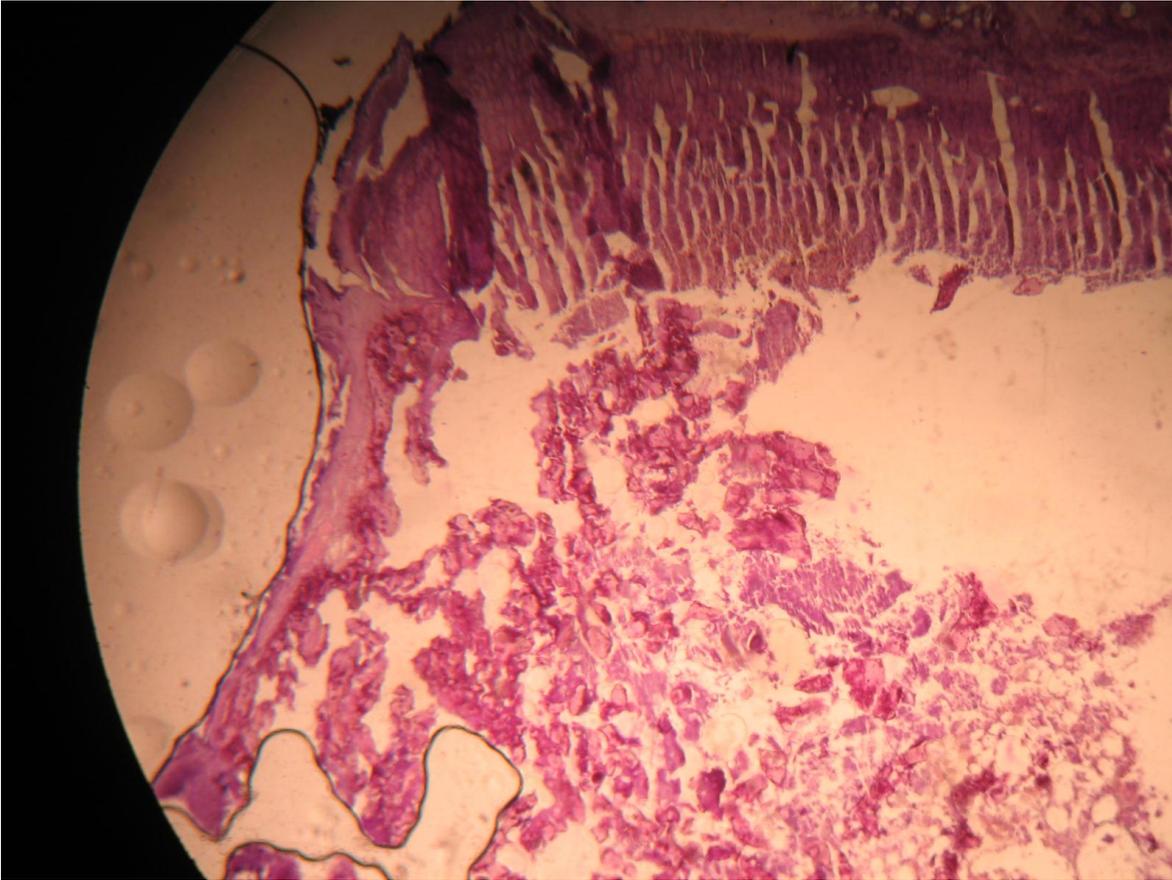


Figura 13. Se muestra reacción inflamatoria supurativa en un corte histológico, grupo alcohol.

05-08-12