

## EFFECTO DEL PROPÓLEO EN LA LONGITUD, TIEMPO Y FORMA HISTOLÓGICA DE REPARACIÓN DE HERIDAS CUTÁNEAS INDUCIDAS EN CUYES (*Cavia porcellus* L.)

Linda Marcos<sup>1</sup>, Daniel Paredes<sup>2</sup>

Recepcionado: 19 de octubre de 2012.

Aceptado: 04 de noviembre de 2013.

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de una pomada a base de propóleo en diferentes concentraciones sobre la longitud, tiempo y forma histológica de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes (*Cavia porcellus*). Para ello se utilizaron 16 cuyes de raza Perú de tres meses de edad distribuidos en cuatro tratamientos: 0% (T<sub>0</sub>), 10% (T<sub>1</sub>), 30% (T<sub>2</sub>), 50% (T<sub>3</sub>) de propóleo y cuatro repeticiones, con un diseño completamente al azar (DCA). A todos los animales se indujo un corte de 130 mm de diámetro en la parte dorsal en el día 0 y la pomada se aplicó mediante hisopado en intervalos de 24 horas hasta finalizar el proceso de reparación. Las mediciones de la longitud de reparación de las heridas mediante el método planimétrico y la toma de biopsias de tejido se realizaron en los días 0, 3, 7, 11 y 15 días después de la incisión. Los tejidos se fijaron en solución de formol al 10%, procesado y coloreados con hematoxilina y eosina. Los resultados fueron evaluados por el análisis de varianza y la prueba de Tukey ( $P > 0.01$ ). La longitud de reparación cutánea en el T<sub>3</sub> fue superior a los demás tratamientos ( $P > 0.01$ ) a partir del tercer día. El T<sub>3</sub> al treceavo día mostró un grado de reparación por completo en comparación al T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> en los cuales la reparación total se obtuvo a los 15 días. El propóleo estimuló la neo formación vascular y fibroblástica, induciendo a la formación epitelial. La longitud y tiempo de reparación de las heridas inducidas mejoraron a medida que se incrementó el contenido de propóleo en la pomada usada y en la forma histológica de reparación predominó la regeneración epitelial.

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

### Abstract

The objective of this research was to determine the effect of medical pomade containing different concentrations of propolis on the skin wounds length, time and histological way of reparation. For this purpose 16 Peru breed guinea pig three month old were used. These specimens were distributed in four treatments: 0% (T<sub>0</sub>), 10% (T<sub>1</sub>), 30% (T<sub>2</sub>), 50% (T<sub>3</sub>) of propolis and four repetitions with a complete randomized design (CRD). A initial surgical 130 mm diameter skin biopsy on the dorsal region were performed to all guinea pigs and the propolis pomade was applied by a cotton bud on 24 hours interval until the skin wound reparation process ended. The measure of wound reparation length by a planimetric method and wound biopsies separation by surgical method were performed at 0, 3, 7, 11 and 15 days post initial surgical biopsy. Skin tissues were fixed in 10% formalin solution, processed and hematoxilin-eosin stained. Data was evaluated by variance analysis and Tukey test ( $p > 0.01$ ). Skin wound reparation length in T<sub>3</sub> was different from the other treatments ( $p > 0.01$ ) after the third day. T<sub>3</sub> at thirteenth day show complete reparation comparing with T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> which repaired completely beyond fifteenth day. Propolis stimulated vascular, epithelial and fibroblastic neoformation. Wounds reparation length and time improved in relation to propolis content in the medical pomade and in the histological way of reparation predominated epithelial regeneration.

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

<sup>1</sup> Práctica privada

<sup>2</sup> Departamento de Ciencia Animal, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María. daniel.paredes9@gmail.com

## Introducción

Lo que se viene buscando en tratamientos médicos alternativos está siendo desarrollado desde algunos años alrededor del mundo. El propóleo es una sustancia resinosa de árboles y arbustos silvestres de color café a verde oscuro de consistencia viscosa a dura es recogido por las abejas (*Apis mellifera*) de diversas partes de la planta (retoños, botones florales y exudados resinosos). Este es usado para el bienestar de la salud en el tratamiento de diversas enfermedades, heridas en las personas y animales. El propóleo con alto contenido de flavonoides ha mostrado inhibir el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*, existiendo una gran variación en la composición de flavonoides en los extractos etanólicos de propóleos recogidos de diferentes regiones de Brasil (1). La interpretación del proceso de reparación que se realiza durante la recuperación de un tejido lesionado tratado con propóleo indica resultados favorables (2). La solución hidroalcohólica de propóleo fue evidenciada mediante una proliferación conectiva acelerada hasta el décimo día post-operatorio en las heridas subcutáneas de ratones, tratados con una pomada a base de confrei, miel y propóleos (3), sin embargo, no se logró determinar la longitud, tiempo y forma de reparación de las heridas bajo el efecto del propóleo. El interés de esta investigación radicó especialmente en determinar la longitud tiempo y forma histológica de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes (*Cavia porcellus*) tratadas con una pomada conteniendo diferentes concentraciones de propóleo.

## Materiales y métodos

Para elaborar la pomada a base de propóleo se obtuvo un extracto del mismo con etanol al 96%, preparando a partir de esta las concentraciones de

10, 30 y 50%. Luego se mezclaron el propóleo con vaselina en estado líquido y luego se solidificó a temperatura ambiente. En 16 cuyes raza Perú de tres meses de edad distribuidos en cuatro grupos T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>, se trazó un círculo de demarcación sobre la piel con un plumón indeleble para lo cual se utilizó un molde de mica de 130 mm de diámetro, luego se les aplicó anestesia local usando 0.1 ml de lidocaína 2% en tres partes del borde. Seguidamente con un bisturí se cortó siguiendo la línea de demarcación y se extrajo el trozo de piel correspondiente. Posteriormente a ello se trataron las heridas del grupo T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, y T<sub>3</sub> hisopando la pomada a base de propóleo con las concentraciones de 10, 30 y 50%, respectivamente sobre las mismas cada 24 horas. Para el grupo T<sub>0</sub> se adicionó sobre la herida agua destilada estéril. Mediante el método planímetro (4) se registró la longitud de avance de reparación de las heridas en los días 3, 7, 11 y 15 de iniciada la misma. Para determinar la forma de reparación del tejido cutáneo se obtuvo una biopsia de un cuy de cada tratamiento en los días 3, 7, 11 y 15, haciendo un total de 16 biopsias. Estas biopsias fueron fijadas en formol al 10% y procesadas según protocolos de histología (5).

## Resultados y discusión

La longitud de reparación cutánea en los tres tratamientos, se caracterizó por tener una secuencia de forma lineal y de regresión lineal progresiva (Figura 1). La longitud de reparación cutánea en el T<sub>3</sub> fue superior a los demás tratamientos (P> 0,01) a partir del tercer día. El T<sub>3</sub> al treceavo día mostró un grado de avance de reparación por completo en comparación al T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> en los cuales la reparación total se obtuvo a los 15 días y a T<sub>0</sub> en el cual la reparación se prolongó más allá de los 15 días, con una ligera inflamación solo en el segundo día de tratamiento (6 y 7).

Cuadro 1. Promedio de longitud de reparación de heridas cutáneas por efecto de la pomada a base de propóleo al 0, 10, 30 y 50 por ciento (mm).

Tratamientos	Días de tratamiento					
	0	3	7	11	13	15
T <sub>0</sub> (testigo)	130.0 <sup>C</sup>	130.0 <sup>C</sup>	69.8 <sup>b</sup>	33.0 <sup>b</sup>	18.8 <sup>b</sup>	0.4 <sup>b</sup>
T <sub>1</sub> (10%)	130.0 <sup>C</sup>	129.3 <sup>b</sup>	69.0 <sup>b</sup>	31.8 <sup>b</sup>	11.5 <sup>ba</sup>	0.05 <sup>b</sup>
T <sub>2</sub> (30%)	130.0 <sup>C</sup>	118.0 <sup>b</sup>	65.8 <sup>b</sup>	29.5 <sup>b</sup>	9.5 <sup>a</sup>	0.03 <sup>b</sup>
T <sub>3</sub> (50%)	130.0 <sup>C</sup>	104.8 <sup>a</sup>	50.0 <sup>a</sup>	25.5 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>

Promedios seguidos por letras diferentes en la misma columna difieren significativamente entre sí (P>0,01) a la prueba de Tukey. a = bueno, b = regular, c = malo

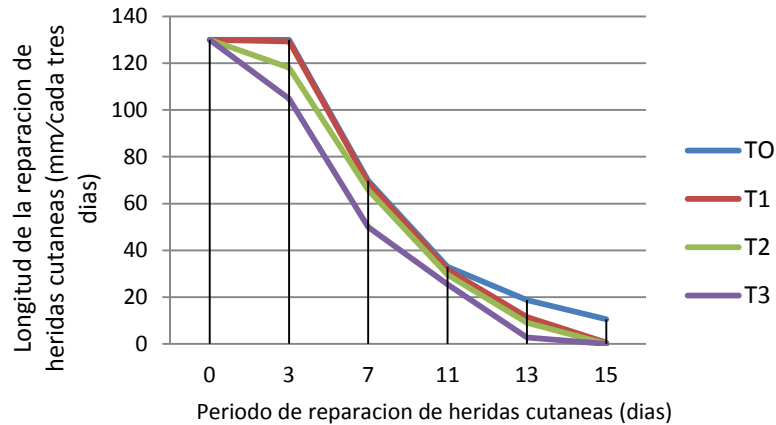


Figura 1. Longitud y tiempo de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes y tratados con pomada conteniendo 0, 10, 30, y 50% de propóleo.

Histológicamente, en T<sub>0</sub> al 3° día se observó la exposición del tejido conectivo adyacente (\*\*), la presencia de neo-formación epitelial (NFE) (Figura 2-A). Al 7° día en la periferia de la lesión mostró una ligera neo-formación epitelial (NFE) y hemorragia (H) (Figura 2-B). Al 11° día se observó, abundante capilares (C), fibras de colágeno (FC), macrófago (M), tejido epitelial organizado (TEO), vasos sanguíneos (VS) (Figura 2-C). Al 15° día, se observó neo-formación epitelial fina (NFE), tejido epitelial organizado y compacto (TEO y C), abundante fibroblastos (F) (Figura 2-D).

formación epitelial adyacente (NFEa), presencia de plasmocitos (P), agregación de eritrocitos en la superficie (E) (Figura 3-A). Al 7° día se observó la proliferación de queratinocitos superficiales (Q), reorganización del tejido conjuntivo (RTC) y capilares sanguíneos (CS) (Figura 3-B). Al 11° día mostró neo-formación de capa cornea (Cc), abundante proliferación de mitosis (M), (Figura 3-C). Al 15° día se observó neo-formación epitelial cubriendo la lesión (NFE). Epitelio organizado con una camada de queratina (Q). El tejido conectivo (TC) se presenta normal con neo-formación fibrilar (NFf) (Figura 3-D).

En la herida tratada con pomada conteniendo propóleo al 10%, al 3° día presentó ligera neo-

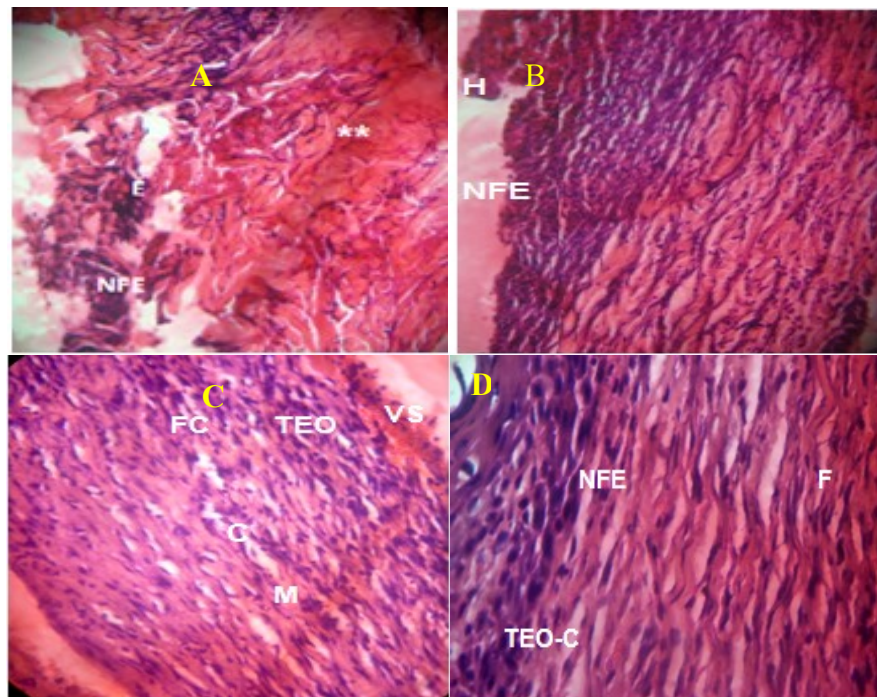


Figura 2. A-D Estructura histológica de la herida al 3°, 7°, 11° y 15° día de recibir agua destilada estéril. Aumento 100X, coloración Hematoxilina Eosina)

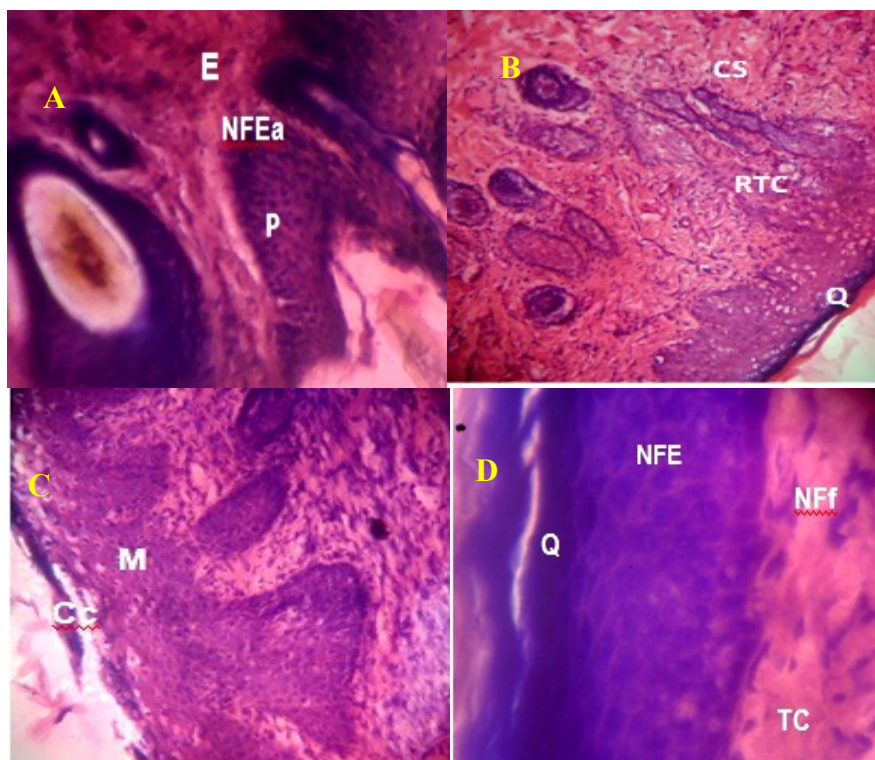


Figura 3. A-D: Estructura histológica de herida al 3º, 7º, 11º y 15º día de recibir pomada con propóleo al 10%. (100X, Hematoxilina Eosina)

La pomada a base de propóleo al 30% al 3º día, provocó neo-formación del tejido epitelial (NFE), abundancia de queratinocitos (Q), una red de fibrina con plasmocitos (RF-P) y macrófagos (M) y numerosos vasos sanguíneos (VS) (Figura 4-A). Al 7º día se observó neo-formación epitelial con estratificación celular (NFE-Ec), células basales con figuras de mitosis (CB-FM), además neo-formación de colágeno (NFC) (Figura 4-B). Al 11º día mostró una estratificación del epitelio (EE), proliferación de capilares (C), presencia de hiperemia (H) y fibroblastos (F) que recubren el tejido conjuntivo. (Figura 4-C). Al 15º día se observó tejido epitelial organizado y fina (TEO y F) y presencia de queratina (Q), asimismo tejido conectivo con vasos sanguíneos (VS), proliferación de fibroblastos (F) (Figura 4-D).

La herida tratada con pomada a base de propóleo al 50% por un periodo de 3 días, se caracterizó

por neo-formación del tejido epitelial (NFE), la organización de los queratinocitos (Q), así mismo la proliferación de vasos sanguíneos con hiperemia (VS-h), presencia de fibras colágenas (FC) y fibroblastos (F). (Figura 5-A). Después de 7 días, se observó tejido epitelial estratificado (TEE), capa de queratina bien formada (Q), proliferación de vasos, abundante hiperemia (h), abundante células en mitosis (m), producción de fibroblastos en la base del tejido epitelial (F) (Figura 5-B). A los 11 días la herida mostró un tejido epitelial bien diferenciado, proliferación capilares sanguíneos con hiperemia (PS-h), proliferación de fibroblastos en la parte basal del tejido epitelial, producción de fibroblastos (F), abundante células de mitosis (m). (Figura 5-C). Al 15º día se observó tejido epitelial estratificado (TEE), capilares sanguíneos con hiperemia (CS-h), proliferación de fibroblastos en la parte basal del tejido epitelial (PF-bte). (Figura 5-D).

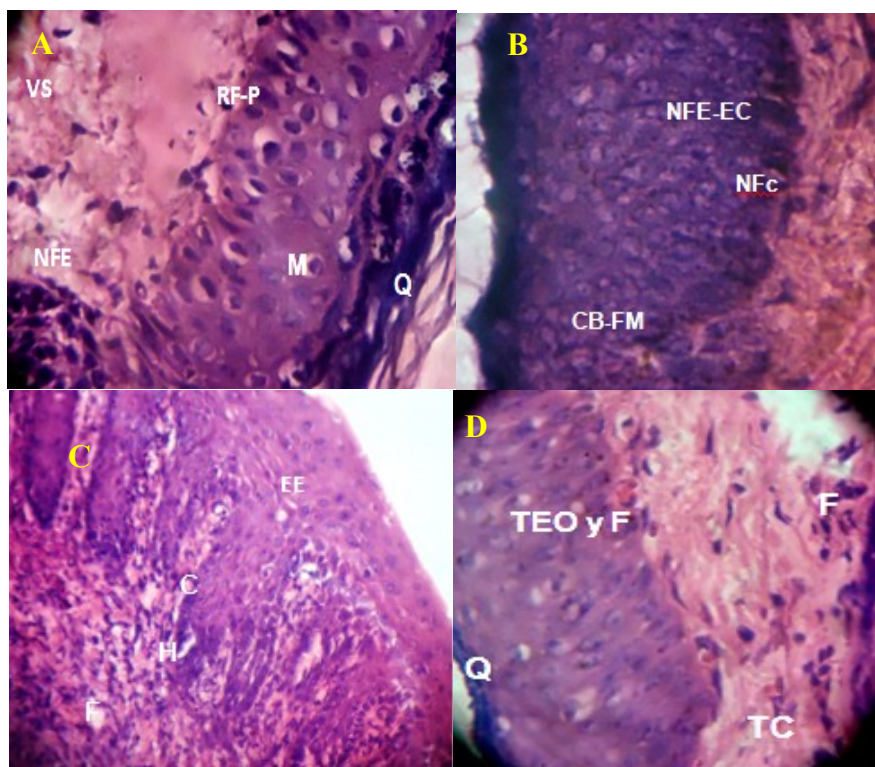


Figura 4 A-D: Estructura histológica de herida al 3<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup>, 11<sup>o</sup> y 15<sup>o</sup> día de recibir pomada con propóleo al 30%. (100 y 400X, Hematoxilina Eosina).

En la reparación de las heridas cutáneas en cuyes bajo la acción del propóleo se evidenció una sustitución completa del tejido epitelial destruido por el mismo tipo de tejido, re-estableciendo así todo su espesor en el T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> a diferencia del T<sub>0</sub> donde la reparación se caracterizó por un mayor crecimiento de fibroblastos, es decir, se produjo un proceso de reparación mixta. El propóleo promueve la regeneración en los tejidos más especializados como es el epitelial en los cuales su capacidad de regeneración disminuye cuanto más especializado es este (3). Las sustancias responsables de esta regeneración posiblemente sean los flavonoides, galangina y pinoembrina y derivados de los ácidos benzoicos, telúricos y ácidos fenólicos, cafeico, siendo estas constituyentes importantes del propóleo (8).

Estas sustancias al mismo tiempo contribuyen a la acción antibacteriana y bacteriostática, acción anestésica, acción cicatrizante, acción antiinflamatoria de los tejidos (9, 10, 11,15). La forma de reparación de heridas cutáneas inducidas en cuyes nos revela que los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>; con pomada a base de propóleo en las heridas no formaron tejidos queloides. Estos presentan importante vascularización con adelgazamiento de la epidermis y gran densidad de fibroblastos (12 y 6).

Al tercer día la pomada a base de propóleo al 10% mostró neo-formación epitelial proveniente de los márgenes de la herida, sin presencia de deshidratación, ni hemorragia. Al séptimo día de tratamiento mostró proliferación de queratinocitos, reorganización del tejido conjuntivo, capilares sanguíneos, presencia de neo-formación vascular.

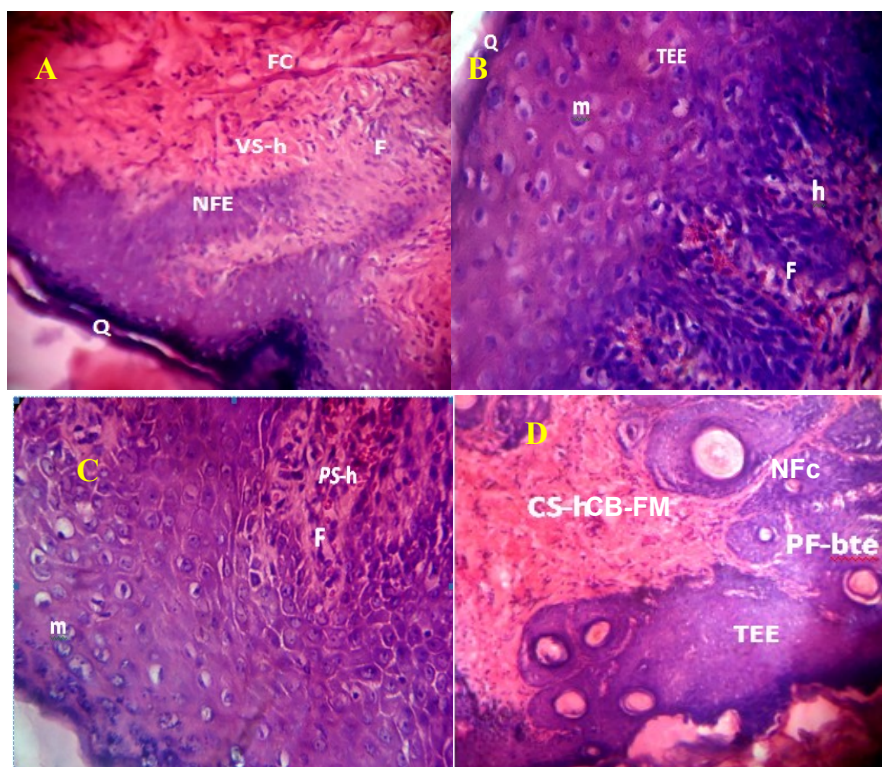


Figura 5 A-D: Estructura histológica de herida al 3°, 7°, 11° y 15° día de recibir pomada con propóleo al 50%. (100 y 400X, Hematoxilina Eosina).

Al onceavo y quinceavo día de tratamiento hubo neo-formación fibrilar, proliferación de mitosis. En el Tratamiento con propóleo al 30% al séptimo día se observó la presencia de macrófagos, lo cual no ocurrió en el T<sub>0</sub> para el mismo período de tiempo, La concentración al 50%, de cierta forma provocó un mayor avance en la reparación, ya que hubo la presencia del tejido epitelial estratificado sin presencia de resecamiento en los períodos iniciales del tratamiento, apareciendo proliferación de fibroblastos y capilares sanguíneos. La neo-formación epitelial de la herida fue más rápida, al compararla con la herida tratada con pomada al 30% y 10% de propóleo (13, 14).

### Conclusiones

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

### Referencias bibliográficas

1. Park C. Andamento das pesquisas sobre propolis na UNICAMP. Mensagen Doce; 1998; 47: 6 - 8 p.
2. Peruchi C. Efecto del propóleo en la cicatrización de lesiones subcutáneas inducidas en el dorso de ratones, estudio histológico. Rev. Fac. Odonto. Univ. de Chile. 2001; 9(2.)
3. Valer V, Trujillo F. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 1980. Hallado en: (<http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/Medicina/documentos>. Acceso el 25 de febrero de 2011.
4. Robbins C. Patología estructural e funcional. Hallado en: <http://www.uees.edu.sv/carreras/odontologia/publicaciones-odontologia/pub/efecto-del-propoleos-en-la-cicatrizacion.pdf>. Acceso el 28 de noviembre de 2011.
5. Cerci M. The effect of propolis extract in experimental chemical corneal injury. Ophthalmic Res. 2000; 32(1): 13 -18.
6. Kotran R, Kumar V, Collins T. Patología estructural y funcional. 6ª ed. Madrid, España, Mac Grauw Hill. 2000. Pp. 117 - 118.
7. Principal J, Pacheco N, Barrios C, Corraes F. Actividad Antibacteriana In Vitro del Extracto Etanólico de propóleo sobre una cepa clínica de *Staphylococcus aureus*. Universidad Centrooccidental. Estacion de Apicultura. Hallado en: <http://pegasus.Ucla.edu.velccc/Vol11-1principal%20articulo%20corregido%5B2%5D.html>. Acceso el 20 octubre de 2011.
8. Bedascarrasbure E. Propoleos: Un Valioso Producto de la Colmena. Instituto PROAPI, Buenos Aires- Argentina. Boletín técnico; 2001.

9. Moreno M, Codmani G, Vattuone A, Sampietro R. Screening of antibacterial activity of amaicha del Valle (Tucuman, Argentina) propolis. *J Ethnopharmacol.* 1999; 68(13): 97 - 102.
10. Hegazi A, Abd el Hady F. Egyptian propolis: 3. Antioxidant, antimicrobial activities and chemical composition of propolis from reclaimed lands. *Z Naturforsch.* 2002; 57 (34): 395 - 402.
11. Bankova V. Determining quality in propolis samples. *J. Am. Apither. Soc.* 2000; 7(2)
12. Rivera V. Fisiología de la cicatrización. Hallado en:  
<http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos>. Acceso el 28 de noviembre de 2011.
13. Magro-Filho O. Acao topica da propolis na reparacao de sulcoplastias pela tecnica de kazanjian modificada. Avaliacao citológica e clínica em pacientes. Tese em cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial- Doutorado, Aracatuba. Faculdade Estadual Paulista, 1991.
14. -----, Application of propóleo to dental sockets and wounds. *J. Nihom. Univ. Dent.* Hallado en:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2345377>. Acceso el 22 de febrero de 2011.
15. Matsuno T. Oefeito terapeutico da propolis, 1ª ed. São Paulo-Brasil. Editorial Abaeté; 1997.

