



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

TESIS

**ANÁLISIS DEL EFECTO CICATRIZANTE DE
MEMBRANAS POLIMÉRICAS NANOESTRUCTURADAS
DOPADAS CON EXTRACTOS DE *DYSPHANIA*
*AMBROSIoidES***

Tesis para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MARILYN ORTIZ CUATEPOTZO

DIRECTORA:

DRA. WENDY ARGELIA GARCÍA SUASTEGUI

CO-DIRECTOR:

MTRO. JONATHAN HILLEL CRUZ SAN JUAN



DICIEMBRE, 2023

DEDICATORIA

A Dios principalmente por mi vida y mi familia, por brindarme fortaleza, templanza, paciencia, fuerza y salud para llegar al día de hoy y permitirme culminar esta etapa de mi vida.

A mis amados padres, que son mi inspiración para seguir luchando por mis sueños y seguir adelante día con día. Gracias por todo lo que me han brindado a lo largo de mi vida, por su amor incondicional, sus consejos, su paciencia, su trabajo, sacrificios, valores, enseñanzas y mucho más que no alcanzarían las palabras para describir. Por ser grandes ejemplos para mí y mostrarme el camino cuando me pierdo, gracias a ustedes porque siempre han confiado en mí e hicieron que hoy sea la mujer que estoy orgullosa de ser. Hoy con gran orgullo les dedico a ustedes este logro, los amo infinitamente.

A mi amado hermano, gracias por siempre estar a mi lado y hacer que mis días sean mejores, por ser mi mejor amigo y confidente, por ser un gran ejemplo para mí, por tus consejos, apoyo, comprensión, por siempre escucharme, animarme a seguir adelante y ser el hermano mayor que siempre quise tener, gracias por tanto amor que me das, te dedico este logro, te amo hermanito.

AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, así como a la Facultad de Ciencias Biológicas por todos los servicios ofrecidos durante mi formación académica y ser una segunda casa para mí. Agradezco el apoyo otorgado para asistir al XIII Congreso Nacional y III Internacional de Tecnología Aplicada a Ciencias de la Salud 2023.

A los Maestros Montserrat Vázquez Balbuena y Hugo R. Molina Arroyo de la Facultad de Ciencias Biológicas BUAP, por sus valiosas participaciones en la comisión revisora del presente trabajo; por su tiempo, observaciones y sugerencias. Gracias por compartir sus increíbles conocimientos, por su compromiso, dedicación y transmitir el amor a la biología en cada clase.

A mi asesora Doctora Wendy A. García Suastegui por abrir las puertas de su laboratorio en el Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción perteneciente al Instituto de Ciencias BUAP y permitirme hacer uso de las instalaciones y equipo necesario para el desarrollo de esta investigación, a mi co-asesor Maestro Jonathan H. Cruz San Juan perteneciente al Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada CIBA-IPN campus Tlaxcala por los tratamientos proporcionados. Agradezco la confianza de ambos, sus enseñanzas, sugerencias, consejos, su tiempo, apoyo, por compartir sus conocimientos y ser guías indispensables del presente trabajo. Al Doctor Juan P. Padilla Martínez del Centro de Investigación en Fisicoquímica de Materiales del Instituto de Ciencias BUAP por las micrografías en SEM, así como al bioterio Claude Bernard de la BUAP por proporcionarnos los organismos necesarios para el proceso experimental.

En especial y gran agradecimiento a mis padres, por todo el apoyo, amor, paciencia, confianza, comprensión y enseñanzas durante toda mi vida, son mis mejores maestros.

A cada uno de mis amigos dentro y fuera de la universidad, a mis futuros colegas y amigos que me brindaron su amistad y estuvieron a mi lado apoyándome, haciendo de esta aventura una experiencia extraordinaria.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
1. Arquitectura de la piel.....	2
1.1 Epidermis.....	3
1.2 Dermis	4
1.3 Hipodermis.....	5
2. Importancia del tratamiento de las heridas de la piel	5
2.1 ¿Qué son las heridas?	6
2.2 Tipos de heridas.....	7
2.3 Etapas de cicatrización de heridas	8
2.3.1 Hemostasia	8
2.3.2 Inflamación.....	9
2.3.3 Proliferación celular.....	10
2.3.4 Remodelación	10
2.4 Apósitos para favorecer el proceso de cicatrización	12
2.4.1 Apósitos a base de polímeros biodegradables	14
3. Nanofibras.....	15
3.1 Electrohilado	16
3.2 Polivinilpirrolidona (PVP).....	17
3.3 Antecedentes del electrohilado en la cicatrización de heridas cutáneas.....	18
4. <i>Dysphania ambrosioides</i>	22
4.1 Usos de D. ambrosioides en la medicina tradicional.....	24
5. ¿Qué son los fenoles?	25
5.1 Efecto de los fenoles en el proceso de cicatrización	26
II. JUSTIFICACIÓN.....	28
III. HIPÓTESIS.....	29

IV.	OBJETIVOS.....	30
V.	METODOLOGÍA.....	31
	Diseño experimental.....	31
	Obtención de apósitos.....	32
	Modelo experimental	33
	Inducción de las heridas cutáneas	33
	Obtención de biopsias para análisis	37
	Cortes histológicos.....	38
	Tinción Hematoxilina & Eosina.....	39
	Análisis morfológico del proceso de cicatrización.....	40
VI.	RESULTADOS.....	42
	Morfología de las membranas por SEM	42
	Seguimiento del cierre de heridas	44
	Fotografías convencionales	44
	Análisis estadístico	47
	Histogramas de superficie	48
	Análisis Histológico	49
	Seguimiento del día 7	50
	Seguimiento del día 14	52
	Seguimiento del día 21	54
VII.	DISCUSIÓN	56
VIII.	CONCLUSIONES	63
IX.	PERSPECTIVAS.....	63
X.	REFERENCIAS	64
XI.	PARTICIPACIONES.....	72

RESUMEN

A lo largo del tiempo para el tratamiento de heridas cutáneas se han utilizado desde infusiones de hierbas crudas, hasta membranas de nanofibras electrohiladas que tienen diversas aplicaciones en las ciencias de la salud, en específico se han propuesto como apósitos novedosos y eficaces para la regeneración y reparación de tejidos. El tamaño nanométrico que poseen juega un papel importante en su similitud con la matriz extracelular funcionando como andamios que proporcionan un soporte adecuado para que las células se adhieran, proliferen y mantengan sus funciones específicas. El material con el que son fabricadas las fibras nanométricas es biocompatible, seguro y de bajo costo, además pueden ser funcionalizadas con diferentes biomateriales integrando sus propiedades físicas y químicas potenciando su eficacia. *Dysphania ambrosioides*, conocida en México como Epazote es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana por sus virtudes curativas en diversos padecimientos, incluidos la cicatrización de heridas. En la presente investigación se analizó el efecto cicatrizante de membranas poliméricas nanoestructuradas dopadas con extractos de *Dysphania ambrosioides*, aplicadas sobre heridas cutáneas de modelos murinos semi alopecicos (*Rattus norvegicus*) monitoreadas durante 21 días. Los resultados mostraron que el tratamiento de nanofibras con extractos completos de *D. ambrosioides*, tuvieron buena biocompatibilidad, aceleraron de manera significativa el proceso de cicatrización de las heridas, no se observaron infecciones por patógenos y favorecieron una mejor estructura y función de la piel y por ende una mejor estética del tejido cicatricial en comparación con tratamientos a base únicamente de extractos completos de *D. ambrosioides* o tratamientos con membranas de PVP sin ningún extracto vegetal.

I. INTRODUCCIÓN

1. Arquitectura de la piel

La piel o tegumento es la superficie más externa del organismo, recubriéndolo por completo, siendo el órgano más grande del cuerpo humano ya que representa aproximadamente del 8-20% del peso total y cubre un área aproximada de 1.8 m² (Guzmán, 2019). Es una barrera física entre el medio ambiente y el interior del organismo, desempeñando diferentes funciones como la termorregulación, bloquear y detectar bioquímicamente bacterias y toxinas invasoras, así como proteger el interior de radiaciones ultravioleta; por ello, es más vulnerable que otros órganos ya que está expuesta directamente a la radiación, traumatismos, lesiones químicas y mecánicas e infecciones que ponen en peligro a todo el organismo (Saladin, 2012).

La piel comprende tres capas: epidermis, dermis e hipodermis (Figura 1). En estas capas se encuentran distribuidos nervios, vasos sanguíneos y anexos cutáneos como folículos pilosos y glándulas sebáceas importantes para la sensibilidad táctil, térmica y de presión (Guzmán, 2019).

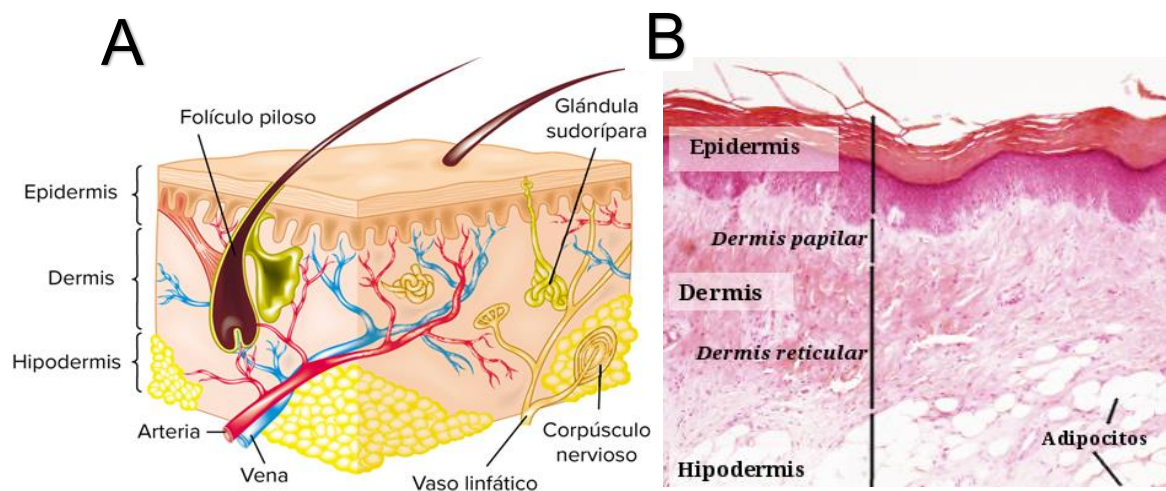


Fig. 1. A) Esquema tridimensional de las capas de la piel humana. Imagen tomada de Guzmán R. (2019). B) Tegumento de *Rattus norvegicus* con técnica parafina, corte transversal de 10 µm, Hematoxilina-Eosina. Fotografía tomada de Megías, M., Molist, P. y Pombal, MA. (2022).

1.1 Epidermis

Esta capa es la más externa de la piel, consta de epitelio escamoso estratificado de 0.1 mm de espesor, es una primera barrera con funciones defensivas protegiendo al organismo de patógenos y agentes irritantes. Se compone principalmente de queratinocitos, que son células productoras de la proteína queratina, estos se reproducen constantemente para reemplazar células viejas o dañadas (Castell R. y Herrera E., 2017). Generalmente, la epidermis de la piel delgada se compone de 4 estratos de diferente grosor (Figura 2).

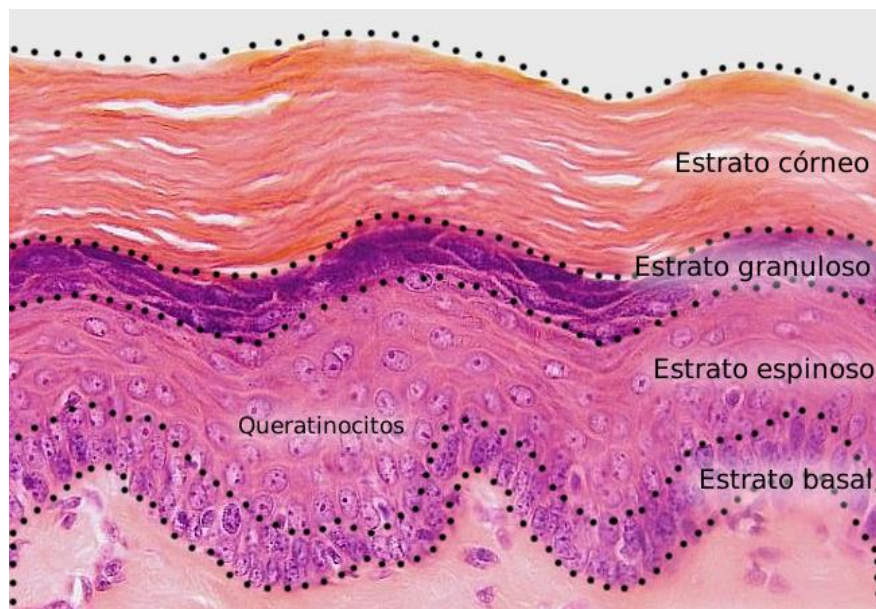


Fig. 2. Tegumento epidérmico de *Mus musculus*, se pueden observar los 4 estratos de la piel delgada. Técnica parafina, corte de 8 μ m, Hematoxilina-Eosina. Fotografía tomada de Megías, M., Molist, P. y Pombal, MA. (2022).

Estrato córneo: Es la capa más externa de la epidermis, está formada por células muertas aplanadas y llenas de queratina llamadas corneocitos. Su función es proteger a la piel frente a la abrasión, la desecación y la invasión de patógenos. Se produce una continua descamación de las capas superficiales de este estrato, así como se incorporan nuevas células desde la siguiente capa.

Estrato Lúcido (Solo en piel gruesa): Es una línea de células planas ubicadas de manera inmediata por debajo del estrato córneo exclusivas en la piel gruesa. No se sabe con certeza su función o por qué esta capa es característica en la epidermis de las palmas de las manos y las plantas de los pies. Se sabe que las células de este estrato carecen de núcleo y su citoplasma está conformado de eleidina, que es una sustancia gelatinosa, rica en lipoproteínas con función de impedir el paso o la pérdida de agua.

Estrato granuloso: Consta de 3 a 5 capas de células aplanadas con granulaciones de queratohialina, que es el precursor de la queratina. Al llegar los queratinocitos a la última capa de este estrato las células epidérmicas mueren por apoptosis y pasan a la capa más externa de la epidermis.

Estrato espinoso: Esta capa es la más ancha de la epidermis, está formada de 5 a 10 capas de queratinocitos organizadas en formas poligonales ligeramente aplanados a medida que se alejan del estrato basal, están unidas entre sí por puentes intercelulares o desmosomas, en esta capa se sintetiza nueva queratina tipo 1 y 10.

Estrato basal: Es la última capa de la epidermis y la más interna, está constituida por una única capa de células madre epiteliales que por división y diferenciación darán lugar a los queratinocitos de las capas superiores. El estrato basal también alberga melanocitos, las células productoras de pigmento que dan color a la piel.

1.2 Dermis

La dermis da durabilidad, fuerza y flexibilidad a la piel, es una estructura de soporte, nutricional y de intercambio de células inmunitarias, contiene fibras y células dérmicas que están incrustadas en una matriz de macromoléculas conocida como matriz extracelular (MEC), que se compone de glicoproteínas y proteoglicanos (Khavkin y Ellis, 2011; Guzmán R., 2019). Está situada entre la epidermis y la hipodermis y es por lo menos 10 veces más gruesa que la epidermis, a su vez la

dermis se divide en 2 regiones distintas que se diferencian por el grosor de las fibras de colágeno, la celularidad y la vasculatura. La **dermis papilar** se encuentra justo debajo de la unión dermoepidérmica, se clasifica como tejido conjuntivo laxo compuesto de delgadas fibras de colágeno tipo I, fibras elásticas, fibrocitos, pequeños vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas con una gran cantidad de matriz intersticial constituida principalmente de ácido hialurónico y proteoglicanos. La **dermis reticular** se clasifica como tejido conjuntivo denso irregular que contiene fibras de colágeno tipo I y III compactas, más gruesas, una gran cantidad de fibras elásticas compuestas por elastina, parte de los apéndices epidérmicos (glándulas y folículos) así como redes vasculares y nerviosas. Las fibras de colágeno son sintetizadas por fibroblastos proporcionando resistencia mecánica y elasticidad a la piel (Khavkin y Ellis, 2011).

1.3 Hipodermis

La hipodermis o tejido celular subcutáneo está compuesta en su mayoría por células adiposas, es la capa más interna de la piel, se localiza entre la dermis y el músculo subyacente, su principal función es la termorregulación, protección de lesiones mecánicas y reservorio de energía, el grosor que presenta esta capa puede variar dependiendo de la región anatómica y entre individuos (Khavkin y Ellis, 2011; Castell R. y Herrera E., 2017).

2. Importancia del tratamiento de las heridas de la piel

A nivel global se estima que aproximadamente 312.9 millones de personas sufren anualmente heridas inducidas quirúrgicamente y 76 millones de personas sufren heridas a consecuencia de ciertas enfermedades como la diabetes, la obesidad o enfermedades cardiovasculares (Weiser *et al.*, 2016). En México, las heridas son un problema de salud prioritario, siendo las úlceras de pie diabético la principal lesión atendida en las unidades de atención médica, situación que puede

relacionarse con enfermedades de mayor incidencia como la diabetes mellitus donde la prevalencia en México ocupa el quinto lugar a nivel mundial, por otro lado, las heridas ocasionadas por quemaduras ocupan el sexto lugar en demanda de atención por tipo de herida a nivel nacional (Vela *et al.*, 2018). Las heridas agudas y crónicas representan para el paciente problemas físicos, emocionales y sociales debido a la presencia de dolor constante, incomodidad, enojo, frustración, problemas en la movilidad, entre otros, afectando por completo su calidad de vida. Por otro lado, las heridas sirven como entrada a microorganismos potenciando daños y complicaciones como infecciones que impactan de manera importante en la economía de los pacientes y de las instituciones de salud, ya que implica la prolongación de la estancia hospitalaria, el consumo de antibióticos adicionales y el aumento de reingresos a unidades médicas.

2.1 ¿Qué son las heridas?

Una **herida** está definida como toda interrupción, cambio o pérdida de la continuidad de estructuras anatómicas y funcionales normales (Jiménez, 2008; Yazarlu *et al.*, 2021). Puede ser desde una simple ruptura en la integridad de la piel o puede ser más profunda, extendiéndose a otras estructuras como tendones, músculos, vasos sanguíneos, nervios, órganos e incluso huesos (Velmar *et al.*, 2009).

Cualquier alteración de la piel, ya sea química o física tiende a provocar diferentes tipos de heridas, por ejemplo, quemaduras, presiones, contusiones, úlceras y cortes (Figura 3), estas también pueden surgir de complicaciones secundarias de otras enfermedades, como el cáncer, la diabetes, la obesidad entre otras (Yazarlu *et al.*, 2021).

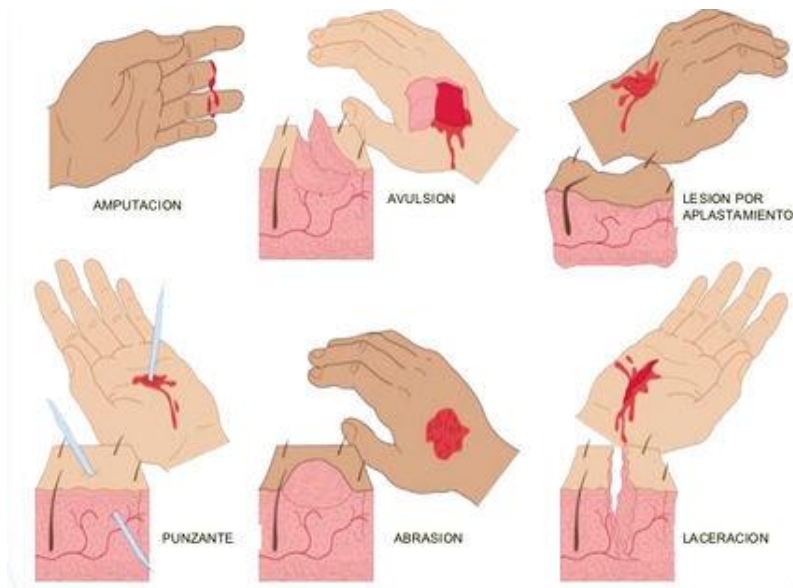


Fig. 3. Ejemplos de tipos de heridas a causa de diferentes factores. Imagen tomada de <https://www.clinicaunisabana.edu.co/index.php?id=4933>

2.2 Tipos de heridas

Las heridas se clasifican con base en la fisiología de la curación, en agudas o crónicas dependiendo de la gravedad de la lesión y las complicaciones que presente en el proceso de cicatrización (Yazarlu *et al.*, 2021).

Las **heridas agudas** cumplen con un proceso de cicatrización de manera ininterrumpida, secuencial y organizada, en un periodo de tiempo predecible según el tipo de herida, sin crecimiento o proliferación de microorganismos en el área y el proceso culmina con el cierre de la lesión sin ninguna complicación.

Son **heridas crónicas** aquellas donde se interrumpe el proceso de cicatrización y permanecen estancadas en alguna etapa excediendo los 21 días. En este tipo de heridas, los niveles de proteasa incrementan ya que hay una liberación persistente de células inflamatorias, lo que desencadena la destrucción de la MEC y prolonga las fases inflamatoria y proliferativa (Velnar *et al.*, 2009). En algunos casos, factores específicos del paciente (diabetes, insuficiencia vascular, deficiencias nutricionales y edad avanzada) combinados con factores tisulares (exceso de actividad de proteasa, carga bacteriana y altos niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS))

produce una inflamación persistente que da lugar a la formación de heridas crónicas (Tottoli *et al.*, 2020). En otras situaciones ocurre que las infecciones por microorganismos o la deshidratación de las heridas alteran el proceso de curación y deterioran el microambiente de estas, lo que resulta en una curación retrasada o incluso en no poder cicatrizar.

2.3 Etapas de cicatrización de heridas

La alteración de la arquitectura de la piel, el sangrado y la formación de un coágulo sólido, rico en plaquetas, inician el proceso de cicatrización de heridas. Este es uno de los procesos más complejos del cuerpo humano, altamente coordinado y regulado espaciotemporalmente, involucra interacciones coordinadas entre diversos sistemas, así como la aparición de diferentes células, citoquinas y factores de crecimiento durante distintas etapas. Este proceso transcurre en diferentes fases (Figura 4): 1. **hemostasia**, 2. **inflamación**, 3. **proliferación** y 4. **remodelación**, estas se solapan e interconectan en el tiempo y no pueden ser disociadas unas de otras (Guarín-Corredor *et al.*, 2013).

2.3.1 Hemostasia

Esta fase ocurre inmediatamente después de cualquier lesión, se inicia con la vasoconstricción, seguida de la liberación de gránulos de trombocitos con la posterior agregación en un tapón de plaquetas que altera el flujo sanguíneo formando un coágulo, se sabe que este proceso dura entre 1 a 3 horas (Yazarlu *et al.*, 2021; Marques *et al.*, 2023).

El coágulo de sangre formado incorpora fibrina reticulada y proteínas de la MEC, como fibronectina, vitronectina, colágeno y trombospondina, que tienen la función de activación celular, así como de mediación y andamiaje para importar en la herida a células como leucocitos, queratinocitos y fibroblastos para promover las fases posteriores de la cicatrización (Lucena *et al.*, 2007; Guarín-Corredor *et al.*, 2013).

El objetivo de esta fase es proteger al organismo de una hemorragia y que la función de los órganos vitales permanezca ilesa a pesar de la lesión, así como formar una matriz para que las células migren hacia la herida e influyan en las siguientes fases.

2.3.2 Inflamación

Ya que se ha formado el tapón plaquetario y se ha detenido la hemorragia, el sitio de la herida se pone de un color rojizo, y aumenta la temperatura en la zona indicando que han llegado las células inflamatorias (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) (Figura 4.A) atraídas al sitio de la herida por quimiocinas y citosinas liberadas por las plaquetas de la fase anterior, esto puede durar de 24 a 48 horas o incluso hasta una semana (Olczyk *et al.*, 2014; Yazarlu *et al.*, 2021).

Esta fase se enfoca en prevenir la proliferación y el crecimiento de agentes infecciosos, así como eliminar células muertas, ya que al llegar los neutrófilos a la herida se inicia el proceso de fagocitosis seguida de destrucción intracelular por la liberación de ROS. Estos fagocitos también secretan varios factores de crecimiento y citocinas, incluidos factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante β (TGF- β), factor de necrosis tumoral (TNF) e interleucinas 1 y 6 (IL 1 e IL6) (Kaltalioglu y Coskun, 2015).

La MEC produce rápidamente una red de colágeno tipo III, que es la forma más débil de esta proteína. Tanto los fibroblastos como los queratinocitos producen TGF- β que conduce a la formación de tejido de granulación y la diferenciación de miofibroblastos (Yazarlu *et al.*, 2021).

A su vez, los macrófagos estimulan la angiogénesis, la fibroplasia y la producción de MEC, vinculando así las fases inflamatoria y de proliferación (Olczyk *et al.*, 2014). Sin embargo, cuando hay un exceso de células inflamatorias se retrasa el proceso de cicatrización de heridas, ya que las citocinas proinflamatorias y los radicales libres tóxicos son dañinos para los constituyentes de la piel, si esto sucede el proceso tiende a estancarse en esta etapa.

2.3.3 Proliferación celular

En esta fase inicia la formación de una nueva capa de células que restaurará la integridad del tejido dañado (Figura 4.B) de 2 a 20 días posteriores a la lesión, se traslapa con la fase inflamatoria y se caracteriza por la activación de la angiogénesis y la migración de fibroblastos, por los cuales se formará una MEC provisional y tejido de granulación involucrando numerosos componentes celulares y moleculares (Greaves *et al.*, 2013; Olczyk *et al.*, 2014).

En esta fase los macrófagos producen una fuente continua de factores de crecimiento PDGF y TGF- β en el área de la herida, lo que está relacionado con la migración y proliferación de fibroblastos y células endoteliales, así como de queratinocitos (Olczyk *et al.*, 2014). Se forma un tejido conjuntivo poco diferenciado y muy vascularizado denominado tejido de granulación (Figura 4.C), que consta de componentes celulares y fibrilares integrados en una matriz temporal que sirve como andamiaje a células como fibroblastos, responsables de la síntesis del componente fibrilar; miofibroblastos, implicados en el mecanismo de contracción de la herida y células endoteliales, responsables del proceso de angiogénesis (Tottoli *et al.*, 2020).

El tejido de granulación va madurando y con ello el colágeno tipo III, que es prominente en la etapa proliferativa temprana de la cicatrización de heridas, se degrada y se sustituye por el colágeno tipo I (que es más fuerte) durante las últimas etapas de la proliferación (Velnar *et al.*, 2009).

El propósito de esta fase está relacionado con la actividad de los fibroblastos que, en presencia de vasos sanguíneos recién formados, proliferan y sintetizan componentes de la MEC, así las células endoteliales también proliferan y migran por encima del tejido de granulación cerrando la superficie de la herida.

2.3.4 Remodelación

Es la última fase del proceso de cicatrización (Figura 4.D) y puede durar de 21 días hasta más de 1 año después de la ruptura del tejido, la cual está enfocada en el desarrollo de un nuevo epitelio y la formación final de un tejido cicatricial.

Todos los procesos activados en fases anteriores se silencian y los macrófagos, las células endoteliales aisladas y los miofibroblastos entran en apoptosis o se reubican fuera de la herida, dejando una región rica en colágeno maduro (tipo I) y otras proteínas maduras de la MEC, esta área ya posee vasos sanguíneos mucho más maduros, que le proporciona a la dermis mayor resistencia a esfuerzos mecánicos (Martínez-Correa *et al.*, 2020).

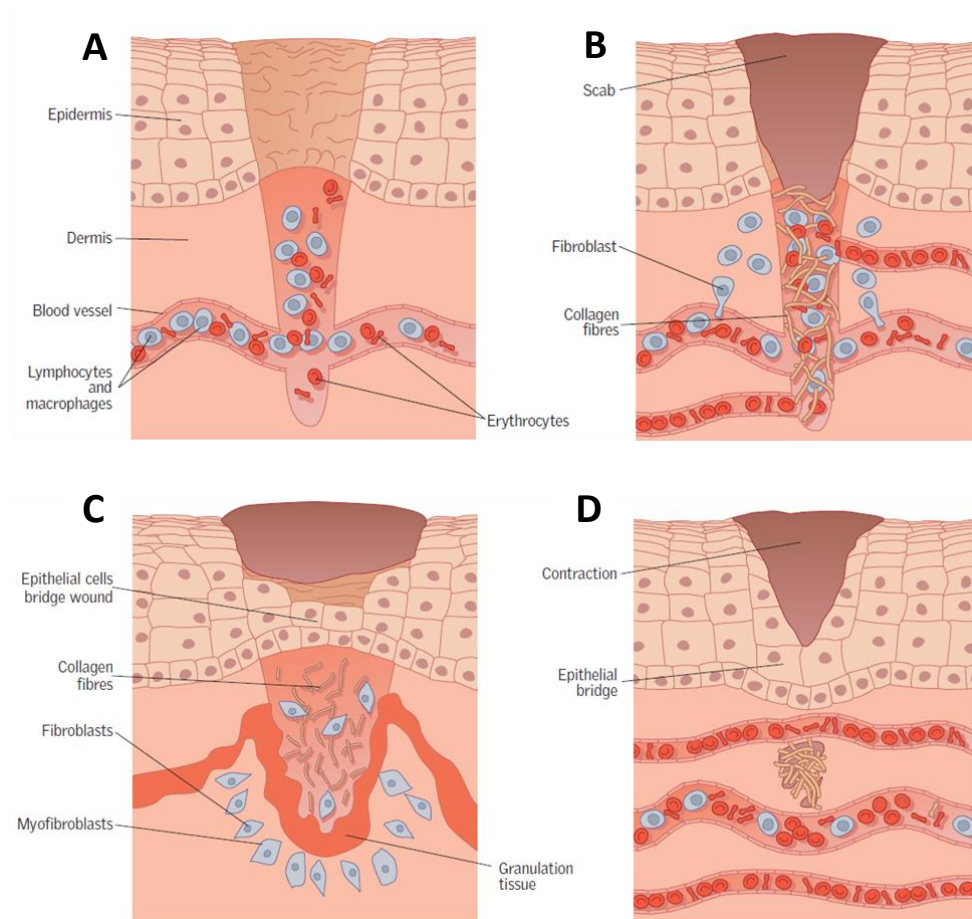


Fig. 4. Fases en la cicatrización de heridas y células involucradas. A) Inflamación, B) y C) Proliferación celular, D) Remodelación. Imagen tomada de Johnstone *et al.* (2005).

2.4 Apósitos para favorecer el proceso de cicatrización

La cicatrización de heridas es un proceso natural del organismo inducido por daños a los tejidos con la finalidad de restaurar o regenerar la estructura y función de estos; así, la curación se puede definir como el conjunto de técnicas que favorecen el proceso de cicatrización en una herida hasta lograr su cierre (Jiménez, 2008). Existen materiales capaces de mejorar el proceso de curación manteniendo un ambiente ideal para la cicatrización, a estos materiales se les llama **apósitos** y se definen como cualquier material empleado para cubrir, proteger y curar heridas de un tejido dañado (Valencia-Gómez *et al.*, 2016). El apósito ideal debe poseer diferentes propiedades algunas de ellas son: preservar un alto nivel de humedad en la herida, permitir el intercambio gaseoso, ser una barrera aislante y protectora ante agentes externos, proporcionar aislamiento térmico, remover secreciones y ser capaz de absorberlas, ser adaptable, flexible y de fácil manipulación, no ser tóxico o contaminante, ser biocompatible con los tejidos, promover la regeneración y el crecimiento del tejido nuevo y ser eliminado fácilmente del organismo sin dejar algún residuo y sin afectar la herida (Andrades *et al.*, 2004; Valencia-Gómez *et al.*, 2016). A su vez, estos apósitos serán factibles cuando se logre una curación rápida a un costo razonable con las mínimas molestias para el paciente (Boateng *et al.*, 2008).

Existen diferentes tipos de apósitos clasificados según su localización y modo de acción. Según la localización se clasifican en primarios o secundarios. Los primarios son aquellos que están en contacto directo con la herida y los secundarios protegen al apósito primario o tienen funciones de absorción (Jiménez, 2008). Según su modo de acción se clasifican en pasivos y activos. Los **apósitos pasivos** son materiales que utilizamos frecuentemente, estos no interactúan con la herida, tienen alta capacidad de desecación, poca absorción y tienden a favorecer la infección, el ejemplo más usado es la gasa tejida o prensada (Andrades *et al.*, 2004; Jiménez, 2008). Los apósitos **activos** son aquellos que interactúan con la herida, estos son utilizados en la curación avanzada y favorecen la cicatrización (Jiménez, 2008). Las características esenciales de estos apósitos es crear y retener un ambiente húmedo alrededor de la herida facilitando el proceso de cicatrización, generalmente se

presentan en forma de geles, películas delgadas o láminas de espuma y la mayoría son elaborados a base de polímeros sintéticos (Boateng *et al.*, 2008), algunos de los ejemplos más utilizados los podemos observar en la Figura 5:

REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS Y EVITAR LA RESECACIÓN  Mallas. Algunas favorecen la epitelización o tienen acción antimicrobiana.	DESBRIDAMIENTO AUTOLÍTICO Y LA CICATRIZACIÓN EN AMBIENTE HÚMEDO  Apósitos hidrocólicos. Pueden usarse también para prevención de lesiones como medio de protección.	LESIONES MUY EXUDATIVAS  Alginatos: alginato de plata o platas no adhesivas con efecto antimicrobiano.	CICATRIZACIÓN  Apósito matricial lipídico-cólicoide
DESBRIDAMIENTO  Apósitos hidrotersivos de fibras de poliacrilato (UrgoClean®), cadexómero iodo e hidrogel.	ABSORCIÓN EXUDADO Y DESBRIDAMIENTO AUTOLÍTICO  Fibras o cintas de hidrofibra	PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS LESIONES Y PARA EL MANEJO DE EXUDADO  Apósitos de espuma de poliuretano y espumas anatómicas. Estos apósitos podrán llevar hidrocólicoide y plata.	

Fig. 5. Ejemplos de apósitos activos en la curación avanzada. Imagen tomada de <https://coemel.es/formacion/valoracion-de-una-upp-y-tipos-de-apositos-mas-frecuentes/>

Hidrocólicos: Geles a base de carboximetilcelulosa (CMC) y pectina. Se utilizan para tratar úlceras por presión, quemaduras menores y lesiones traumáticas. Son impermeables al agua y se encuentran en forma de pastas, polvos o láminas adhesivas, que producen un cambio físico (formación de gel) al entrar en contacto con la herida (Boateng *et al.*, 2008).

Alginatos y Espumas: Se producen a partir de las sales de calcio y sodio, así como de polisacáridos de ácido algínico, se presentan en forma de láminas porosas liofilizadas (espumas) o como fibras flexibles, poseen una gran absorción (Andrades *et al.*, 2004; Valencia-Gómez *et al.*, 2016).

Hidrogeles: Son materiales hidrofílicos insolubles e hinchables hechos de polímeros sintéticos como polimetacrilatos (PMMA) y polivinilpirrolidona (PVP), estos son utilizados para heridas infectadas y para favorecer la epitelización, sin embargo, contienen cantidades significativas de agua (70-90%), en consecuencia, no pueden absorber mucho exudado, por lo que se utilizan para heridas con exudado de leve a moderado (Martínez-Correa *et al.*, 2020).

Hidropolímeros: Son polímeros con gran capacidad de absorción, compuestos de moléculas de poliuretano que se expanden al atrapar el exudado y una cubierta impermeable de polivinilo, así se genera una barrera protectora y son ideales para el manejo de heridas grandes y muy exudativas (Jiménez, 2008).

2.4.1 Apósitos a base de polímeros biodegradables

Están fabricados de una combinación de biomateriales que desempeñan un papel activo en el proceso de cicatrización, incluyen productos de ingeniería tisular derivados de tejidos naturales como colágeno, ácido hialurónico, quitosano, elastina, entre otros. La ventaja de este tipo de apósitos es que forman parte de la matriz tisular natural, son biodegradables y algunos juegan un papel activo en la cicatrización normal de heridas y formación de tejido nuevo, y en algunos casos se pueden incorporar con compuestos activos como antimicrobianos, fármacos o factores de crecimiento para administrarlos en el sitio de la herida (Boateng *et al.*, 2008). Los apósitos se han desarrollado a lo largo de los años a partir de aplicaciones crudas de hierbas, grasas animales y diferentes materiales de origen natural hasta andamios de ingeniería de tejidos.

3. Nanofibras

La fabricación de membranas como apósitos a base de nanofibras en la ingeniería de tejidos es novedosa y con diferentes ventajas comparada con otros apósitos avanzados ya que el nivel nanométrico mimetiza ciertas estructuras celulares propias de los organismos.

Las **nanofibras** son fibras de materiales poliméricos naturales o sintéticos con diámetros que van desde los nanómetros hasta varios micrómetros (Figura 6), son utilizadas principalmente en la ingeniería de tejidos con aplicaciones biomédicas como andamios porosos que proporcionan un soporte adecuado para que las células se adhieran, proliferen y mantengan sus funciones específicas debido a la similitud con la MEC (Dong *et al.*, 2020). Como apósitos en la curación de heridas, el tamaño pequeño de los poros y la alta porosidad de las nanofibras depositadas al azar aseguran el libre intercambio gaseoso y moléculas líquidas, así como ayudan a proteger la herida de alguna infección (Liu *et al.*, 2021). Existen diferentes técnicas para la fabricación de nanofibras como estiramiento, separación de fases, autoensamblaje y el más común, el electrohilado.

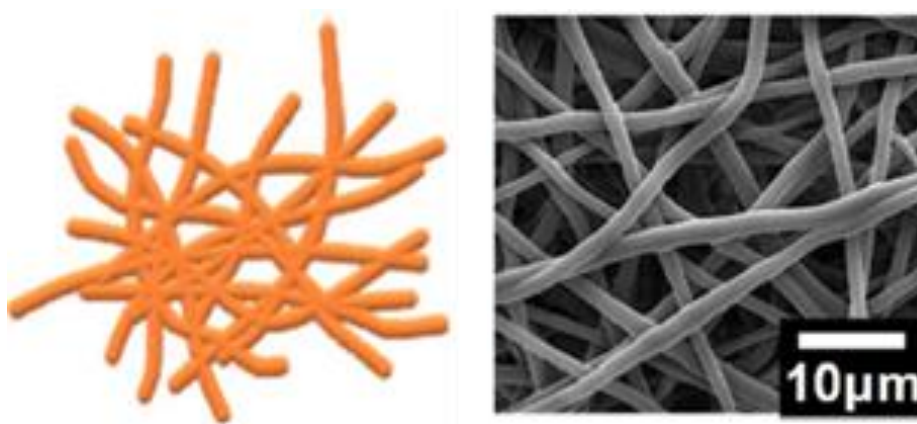


Fig. 6. Representación del tamaño y arreglo aleatorio de las nanofibras. Imagen tomada de Dong *et al.*, (2020).

3.1 Electrohilado

La técnica de electrohilado combina la biología y la nanotecnología para la creación de apósitos que proporcionen un soporte semejante a la MEC. El electrohilado es una de las técnicas más utilizadas para obtener nanofibras, lo cual resulta ventajoso ya que se obtienen diámetros de fibras y áreas de poros favorables que pueden imitar la estructura de la MEC y ser biocompatibles para promover el proceso de cicatrización de heridas (Lee *et al.*, 2022). Al mismo tiempo la membrana fabricada con técnica de electrohilado posee una alta permeabilidad y capacidad de mantener un entorno de curación húmedo absorbiendo el exudado, así como una gran superficie que beneficia la unión, carga y transporte de ingredientes bioactivos, como fármacos y factores de crecimiento (Liu *et al.*, 2021).

La fabricación de nanofibras con esta técnica resulta ser fácil y económica, se compone principalmente de tres partes: 1. un generador de alto voltaje, 2. un conductor de fluido (aguja metálica) y 3. un dispositivo de recolección, como se puede observar en la Figura 7.

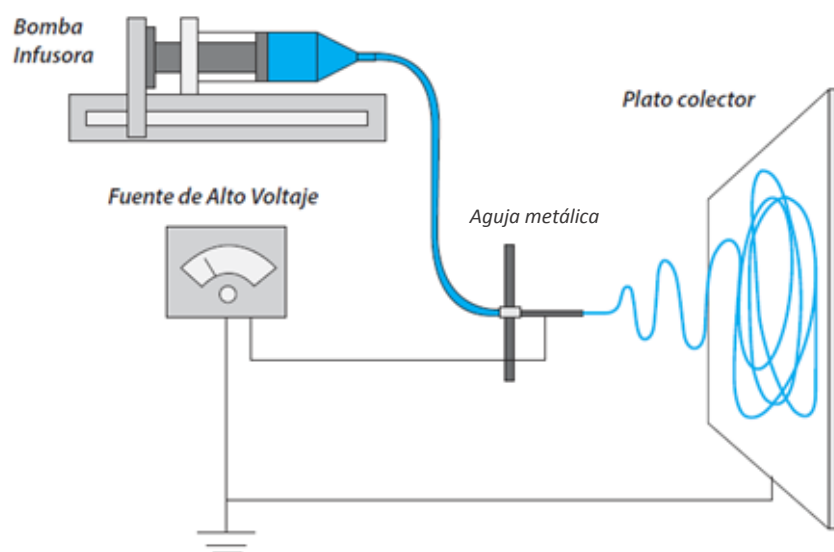


Fig. 7. Técnica de electrohilado para la fabricación de nanofibras. Imagen tomada Molfino *et al.*, (2020).

La técnica consiste en un generador de alto voltaje que posee dos electrodos los cuales son conectados a la salida de la aguja metálica y otro directo al plato de recolección, así se genera un campo electrostático entre dos polos opuestos; la aguja metálica en un extremo y la placa metálica colectora por el otro extremo donde se depositarán las nanofibras en forma de membrana. El contenido (polímero) se agrega en un tubo o jeringa conectado a la aguja metálica, para expulsar el contenido hacia la placa colectora utilizando una bomba de infusión. De esta forma se genera una presión en el embolo expulsando el polímero, formando una gota que al romper la tensión superficial dispara el polímero formando el cono de Taylor. Cuando el polímero se extiende sobre una cierta distancia, entra en la etapa de flexión y latigazo estirándose a micrómetros o incluso decenas de nanómetros, formando las delgadas nanofibras, finalmente se solidifica y se deposita en la placa colectora como se puede observar en la Figura 7.

Este proceso se puede ajustar mediante los parámetros del sistema dándole características específicas a las membranas (tipo de polímero, peso molecular, viscosidad, conductividad de la solución, tensión superficial), parámetros del proceso (voltaje, distancia de recepción) y parámetros ambientales (humedad, temperatura) cambiando la morfología y el tamaño de las nanofibras (Liu *et al.*, 2021).

3.2 Polivinilpirrolidona (PVP)

Uno de los polímeros sintéticos de interés en la ingeniería de tejidos y con los que se han desarrollado nanofibras a partir de la técnica de electrohilado es la **polivinilpirrolidona (PVP)**. Esta es una poliamida que se obtiene de la polimerización del monómero N-vinilpirrolidona, el cual es hidrofílico, biocompatible y transparente, normalmente se mezcla o enlaza con otros polímeros ya que la estructura que posee puede ser manipulada para unirse con otras moléculas bioactivas (Martínez-Correa *et al.*, 2020).

Los polímeros naturales electrohilados brindan propiedades similares a las funciones biológicas como la señalización celular, sin embargo, hay mayor variabilidad en características estructurales, como el diámetro de la fibra. Por otro lado, los polímeros sintéticos permiten un mayor control en la estructura, pero la capacidad de señalización disminuye (Molfino *et al.*, 2020).

3.3 Antecedentes del electrohilado en la cicatrización de heridas cutáneas

La mezcla de polímeros naturales y sintéticos combina características favorables como la resistencia y durabilidad del polímero sintético y la afinidad celular específica de un polímero natural, dando en conjunto propiedades físicas como la funcionalidad biológica de las fibras (Molfino *et al.*, 2020).

Las fibras electrohiladas tienen una buena permeabilidad a los gases y pueden proporcionar un entorno biomimético para la regeneración de las células de la piel durante la cicatrización de heridas (Sun *et al.*, 2019). Se ha reportado la técnica de electrohilado en la fabricación de apósitos para la regeneración y reparación de tejidos. En un estudio se utilizó la combinación de técnicas, electrohilado y deposición capa por capa, formando un apósito multicapa de poli ϵ -caprolactona (PLC) recubiertos de quitosano y ácido hialurónico probado en cultivos celulares. Los resultados demostraron, que al día 7, la monocapa de quitosano favoreció la proliferación de queratinocitos y aumentó las uniones celulares en comparación con las demás fibras, por lo que se propuso su aplicación para la cicatrización de heridas *in vivo* (Croisier *et al.*, 2014). Otro estudio hecho por Mahmoudi y colaboradores, muestra la efectividad de esta técnica electrohilando quitosano y PVP altamente concentrados que contenían nanoláminas de óxido de grafeno (GO) formando un tipo de injerto de piel temporal. Como resultado de los estudios *in vivo* en piel de rata se demostró un efecto de curación acelerado, es decir, una herida abierta de aproximadamente 1.5×1.5 cm se regeneró por completo después de 14 días de la intervención e incluso se pudo observar formación de dermis gruesa y epitelización completa (Mahmoudi *et al.*, 2017). En otro estudio se elaboró una membrana de

nanofibras con electrohilado en capas que contenían Aloína/PVP-Aloína/PVP/ácido poliláctico (PLA)-PLA respectivamente con la finalidad de lograr una liberación de fármacos bifásico que se regulaba en el tiempo, esto fue probado en heridas de 1 cm de ratones macho, resultando para el día 15 un cierre del 96.67% y demostrando una excelente actividad antibacteriana, crecimiento de tejido de granulación, deposición de colágeno y una buena remodelación de tejido epitelial (Li *et al.*, 2022). En otro trabajo se fabricó una membrana nanofibrosa tricapa de quitosano-PVA (alcohol polivinílico) con nanobiovidrio (nBG-TFM) mediante electrohilado secuencial, esta membrana proporcionó el ambiente adecuado para la curación de heridas en ratas y en heridas crónicas en ratones diabéticos, resultando una membrana tricapa con excelente biocompatibilidad, actividad antibacteriana y mayor efecto en la tasa de regeneración, logrando una curación significativamente acelerada y mejorada en términos de reepitelización completa, alineación mejorada de colágeno y formación de apéndices cutáneos (Chen *et al.*, 2019).

Cabe destacar que apósitos fabricados a partir de electrohilado que han combinado polímeros sintéticos con diferentes materiales de origen natural dan mejores resultados y potencian su eficacia debido a las propiedades que poseen este tipo de materiales, ejemplo de esta combinación se puede observar en un trabajo reciente donde se usó esta técnica para fabricar un apósito de PVA y miel a diferentes concentraciones. La miel se ha utilizado desde la antigüedad en la curación de heridas, ofreciendo propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes. La membrana nanofibrosa electrohilada fue probada *in vitro* con células epiteliales dando como resultado una importante adhesión y proliferación entre los días 1 y 5, además, exhibió propiedades antibacterianas que fueron mayores en los andamios con 1% de miel así como los andamios que contenían 0.5% de miel que también exhibieron mayores propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, por lo cual demostraron propiedades fundamentales en el microambiente de curación de una herida (Sarkar *et al.*, 2018).

De la misma forma, en el trabajo de Min y colaboradores se fabricaron nanofibras por electrohilado con fibroína de seda (SF) por sus propiedades que incluyen buena

biocompatibilidad, buena permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua, biodegradabilidad y reacción inflamatoria mínima, estas membranas se probaron en cultivos celulares de queratinocitos y fibroblastos humanos dando como resultado principal la presencia de colágeno tipo I, uno de los ligandos de integrina que es funcionalmente activo en términos de adhesión celular a las nanofibras de SF electrohiladas, proponiendo este apósito como un candidato ideal para la curación de heridas *in vivo* (Min *et al.*, 2004).

Los aceites esenciales se han usado de igual manera para la elaboración de este tipo de apósitos, Liakos y colaboradores elaboraron fibras compuestas a base de celulosa electrohiladas que encapsulan de manera efectiva a tres tipos diferentes de aceites esenciales; canela, limoncillo y menta a diferentes concentraciones, estas se probaron *in vitro* (con fibroblastos y queratinocitos humanos), demostrando que este tipo de apósito tiene función biocompatible, antibacteriana y antifúngica probándose contra *Escherichia coli* y *Candida albicans* resultando una inhibición completa de su crecimiento, por lo que este apósito resulta funcional como dispositivo biomédico para el cuidado de heridas *in vivo* (Liakos *et al.*, 2015)

Sin embargo, poco se ha documentado el electrohilado con la incorporación de extractos vegetales para fabricar apósitos avanzados capaces de promover la reparación eficiente de heridas, dando una importancia significativa a este campo de estudio ya que las plantas poseen múltiples propiedades farmacológicas que pueden mejorar la acción de los apósitos. Por ejemplo, el *Aloe vera* electrohilado con gelatina (Gel) y PCL (Policaprolactona) demostró ser un buen candidato como apósito, ya que *in vitro* demostró aumentar la proliferación celular, sin toxicidad para las células, además de conducir a una adecuada biodegradación, también se observó que tiene actividad antibacteriana contra bacterias Gram (positivas y negativas) (>99% y 85.63% respectivamente) (Baghersad *et al.*, 2018). Otro ejemplo de extractos de plantas usadas en esta técnica como antimicrobiano es *Tecomella undulata*, una planta del desierto de Thar, electrohilada con PCL y PVP, las cuales se evaluaron frente a tres microorganismos modelo, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *E. coli* que están comúnmente implicadas en infecciones

de heridas, resultando ser apósitos con actividad fuertemente antimicrobiana (Suganya *et al.*, 2011). En otro estudio se han producido nanofibras de gelatina cargadas con *Centella asiatica*, una hierba medicinal de Asia usada en la cicatrización de heridas, dando como resultado un apósito que aplicado a una herida *in vivo* se recuperó en un 83% en siete días y se caracterizó por una mayor formación de capilares sanguíneos, demostrando que tiene un efecto positivo en la aceleración de la cicatrización al actuar sobre las fases inflamatoria y proliferativa, así como proteger el sitio lesionado contra la colonización bacteriana (Zhang *et al.*, 2017).

En otro estudio se empleó el extracto de *Chamaemelum nobile*, comúnmente llamada manzanilla, esta planta es usada en la medicina tradicional mexicana para el alivio de diferentes malestares de los cuales destacan dolores estomacales e inflamatorios; Motealleh y colaboradores obtuvieron nanofibras por electrohilado de PCL, poliestireno (PS) y manzanilla, exhibiendo un efecto antimicrobiano contra bacterias y hongos, además de demostrar que estas membranas pudieron curar heridas en un 99% para el día 14 después de aplicar el tratamiento en un modelo animal, conduciendo a la proliferación de fibroblastos, una mayor formación de tejido de granulación y por consecuencia una mayor eficiencia en la reparación del tejido (Motealleh *et al.*, 2014).

En un trabajo reciente Cruz-San Juan fabricó membranas de PVP dopadas con extractos de *Hamelia patens*, una planta utilizada en la medicina tradicional de la República Mexicana por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias, aplicando estos apósitos a modelos animales con heridas inducidas, se concluyó que el tratamiento ayuda a acelerar la cicatrización y a recuperar la estructura de las 3 capas de la piel y la diferenciación de estructuras como folículos pilosos, la cual se observó por completo a partir del día 14 (Cruz-San Juan, 2021).

4. *Dysphania ambrosioides*

Dysphania ambrosioides L. (Mosyakin y Clemants, 2002) (Tabla 1) (Figura 8) anteriormente conocida como *Chenopodium ambrosioides* L., es una hierba cosmopolita conocida popularmente en México como Epazote, que proviene del náhuatl *epatl*, que significa hierba fétida y *tzotl* que es dulce, lo cual se refiere al olor fuerte que tiene esta planta (Gómez-Castellanos, 2008), otros nombres que recibe son: Paico, Té de los jesuitas, Maztruz, Santa María y en inglés son conocidas como Mexican tea o Wormseed (Budeguer, 2012).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la planta aromática *D. ambrosioides*.

Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllales
Familia	Amaranthaceae
Subfamilia	Chenopodioideae
Género	Dysphania
Especie	<i>Dysphania ambrosioides</i> (L) Mosyakin & Clemants

Es una planta aromática, con un olor fuerte, perenne, a veces leñosa en la base, con el tallo usualmente erecto, de aproximadamente 40 cm a 1 metro de altura, con múltiples ramificaciones acanaladas y un crecimiento robusto. Las hojas como se puede observar en la Figura 8 son ovales de hasta 4 cm de largo y 1 cm de ancho, dentadas, alternas y de pecíolo corto. Las flores son pequeñas y verdes, el cáliz está formado por cinco sépalos glabros con pétalos ausentes, con cinco estambres

y ovario esférico, comprimido, con estilo pequeño. Las semillas son muy pequeñas de 0.6 a 0.8 mm de longitud aproximadamente, verdes cuando están frescas y negras cuando están secas (Kasali *et al.*, 2021).



Fig. 8. Fotografía de la morfología de la planta aromática *Dysphania ambrosioides*. [Fotografía original].

Su centro de origen es México y las zonas templadas del continente americano, aunque ha sido naturalizada en otras regiones del mundo (Budeguer, 2012), es una planta que crece en casi todos los tipos de suelo, preferentemente en suelos húmedos, por ello, se le puede encontrar a lo largo de la República Mexicana, en terrenos cultivados, jardines, parques o en los patios de los hogares mexicanos.

4.1 Usos de *D. ambrosioides* en la medicina tradicional

En varias partes del mundo se utilizan plantas como remedio a varias enfermedades y/o malestares, por su eficiencia, bajo costo y fácil adquisición. En algunas ocasiones se aprovecha la planta completa, pero según la afección lo más común es usar las hojas y las flores, ya sea en infusiones, aceites, pomadas, etc. El uso de plantas medicinales se ha utilizado de forma empírica de generación en generación a través de la medicina tradicional, en la actualidad las plantas medicinales son una fuente importante de fármacos que utilizamos cotidianamente. Alrededor del 25% de los fármacos prescritos a nivel mundial provienen de plantas (Alonso-Castro *et al.*, 2012).

D. ambrosioides se usa de forma tradicional como remedio a un gran número de enfermedades y malestares, así como ingrediente culinario. Se utiliza a partir de infusiones o decocciones de las hojas e inflorescencias, al igual que su aceite esencial. Se ha reportado el uso de aceite esencial de epazote durante principios del siglo XX, el cual era uno de los antihelmínticos de mayor distribución para humanos, perros, gatos, caballos y cerdos (Gómez-Castellanos, 2008).

Tradicionalmente las infusiones o té de epazote se preparan a partir de las hojas secas en agua hirviendo, resultando un preparado de color amarillo, con un sabor más o menos fuerte dependiendo de la concentración de epazote y si está o no combinado con otras plantas, esta infusión es preparada y se toma si hay presencia de dolor estomacal, usualmente las personas asocian esta dolencia a la presencia de parásitos intestinales. La infusión es conveniente para el aprovechamiento de las partes blandas de las plantas, especialmente aquellas que contienen compuestos volátiles, para que el solvente (agua) pueda entrar rápidamente en los tejidos en un corto tiempo de preparación (Kasali *et al.*, 2021).

Se ha demostrado que la hoja de *D. ambrosioides* posee excelentes propiedades antiparasitarias, siendo una de las principales propiedades por la que es conocida, sin embargo, esta planta posee un gran número de acciones beneficiosas para el ser humano de las cuales destacan sus propiedades antimalárica, analgésica,

antiinflamatoria, antimicrobiana, antifúngica y antioxidante (Budeguer, 2012; Kasali *et al.*, 2021).

Las infusiones de Epazote también son utilizadas comúnmente en la curación de heridas, por disminuir el dolor en la zona afectada, así como desinflamar y acelerar el proceso de cicatrización. Se ha reportado evidencia sobre la curación de heridas utilizando *D. ambrosioides*, por ejemplo, en un estudio realizado por Trivellato-Grassi y colaboradores, la planta se utilizó en un tratamiento tópico hecho de extractos de hojas y tallos mejorando la cicatrización de heridas cutáneas causadas experimentalmente en ratones. Los resultados generales de este trabajo reportaron que los extractos de *D. ambrosioides* repararon el tejido y disminuyeron el tamaño de la lesión específicamente en los días 7, 14 y 19 después de la inducción de la lesión, también se pudo observar inhibición del proceso inflamatorio e infeccioso (Trivellato-Grassi *et al.*, 2013).

Los compuestos bioactivos propios de cada planta son los responsables de actuar contra diferentes malestares o enfermedades, proporcionando importantes beneficios a la salud. Principalmente se ha investigado la actividad de los metabolitos secundarios presentes en las plantas en diferentes áreas de investigación por sus propiedades y efectos farmacológicos. Los estudios fitoquímicos en *D. ambrosioides* han revelado que la planta presenta en su mayoría polifenoles como flavonoides, seguido de taninos, terpenoides, terpenos y alcaloides (Pinheiro-Neto *et al.*, 2017; Tchani *et al.*, 2021).

5. ¿Qué son los fenoles?

Los compuestos fenólicos se originan en las plantas como parte de sus metabolitos secundarios, estos se forman como producto de sus funciones defensivas para el fortalecimiento y reparación de la pared celular, actividades antimicrobianas y antifúngicas (Zárate-Martínez *et al.*, 2021). Por ejemplo, las fitoalexinas son un tipo de flavonoides que se presentan en respuesta a ataques fúngicos o bacterianos, haciendo que estos compuestos se acumulen alrededor de una lesión en respuesta

al crecimiento de patógenos en la planta (Figueroa-Merma, *et al.*, 2021). Además, se ha reportado que los flavonoides representan más de la mitad de los ocho mil compuestos fenólicos naturales que contienen las plantas.

En nuestra dieta diaria podemos encontrar alimentos ricos en compuestos fenólicos como la cebolla, el té, el vino tinto, el cacao, el aceite de oliva virgen y muchos otros alimentos de origen vegetal. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor. Se ha estudiado de manera significativa que los fenoles desempeñan un papel en la prevención de varias enfermedades, por ejemplo, se ha encontrado que alimentos con un alto contenido de compuestos fenólicos tienen propiedades antioxidantes ayudando a reducir la incidencia de ciertas enfermedades crónicas, como diabetes y enfermedades cardiovasculares, a través del manejo del estrés oxidativo (Abbas *et al.*, 2016).

5.1 Efecto de los fenoles en el proceso de cicatrización

En la cicatrización de heridas se presentan ROS que, si bien son funcionales para la señalización de la curación, en exceso podrían estancar el proceso de cicatrización induciendo fiebre e inflamación prolongada. Se sabe que los compuestos fenólicos o polifenoles poseen actividad antioxidante específicamente los flavonoides, los cuales contienen propiedades quelantes de hierro, secuestradoras de ROS, inhibición de oxidasas y estimulación de otras enzimas con reconocidas propiedades antioxidantes, como la catalasa y la superóxido dismutasa (Díaz-Solares *et al.*, 2017). Los flavonoides intervienen en la cicatrización porque evitan la liberación de prostaglandinas e histaminas, y la migración de neutrófilos. Además, estabilizan la membrana celular porque captan las ROS presentes y evitan el daño celular para la regeneración óptima del tejido. Por otro lado, está demostrado que los ácidos fenólicos, un grupo específico de fenoles vegetales simples, pueden controlar los procesos de señalización celular durante la

inflamación y se ha informado que suprimen la sobreproducción de mediadores inflamatorios que conducen a diferentes tipos de daño celular (Al Jitan *et al.*, 2018).

En un estudio realizado por Díaz-Solares y colaboradores se demostró el uso potencial antioxidante y cicatrizante de los extractos frescos de hoja y raíz de *Morus alba* comúnmente llamada morera. Esta es una planta conocida por sus propiedades antioxidantes, lo cual sugiere estar relacionado fundamentalmente por su contenido de flavonoides. Los extractos de hojas contenían una mayor concentración de flavonoides y se probaron en heridas *in vivo* resultando ser beneficiosos en la cicatrización ya que transcurrido el día 18 después de la lesión se mostró una disminución del diámetro del 99.9% siendo este el mejor tratamiento en el estudio, proponiendo a los flavonoides como principales compuestos que influyen en el proceso de cicatrización (Díaz-Solares *et al.*, 2017).

Rhizophora mangle (L.) llamado comúnmente manglar rojo, también es conocido por su importancia en la etnofarmacología ya que se ha demostrado su eficacia en diferentes padecimientos incluyendo la curación de las heridas, posee propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes; Sánchez y colaboradores probaron la acción de las fracciones polifenólicas de esta planta en un modelo de curación de heridas inducidas en ratas para determinar sus propiedades antioxidantes y su efecto sobre el balance redox durante el proceso de reparación de heridas dando como resultado que su fracción polifenólica es el principal responsable del incremento de las enzimas antioxidantes y de la inhibición de peroxidación lipídica en el tejido cicatricial, explicando el efecto acelerador de la curación de heridas mostrado en este trabajo (Sánchez *et al.*, 2009).

Aun se sigue indagando sobre el potencial de los extractos y los grupos funcionales propios de las plantas usados para el beneficio de la salud, el caso de *D. ambrosioides* no es la excepción. Este trabajo pretende hacer uso de un apósito funcionalizado con extractos de la planta *D. ambrosioides* analizando su efecto cicatrizante en heridas cutáneas.

II. JUSTIFICACIÓN

A nivel global, las heridas representan un gran problema de salud pública, en México las úlceras de pie diabético son la principal lesión atendida en las unidades médicas, situación que puede relacionarse con la elevada prevalencia de diabetes mellitus en nuestro país. Las heridas representan para el paciente problemas físicos, emocionales y sociales debido a la presencia de dolor constante, incomodidad, enojo, frustración, problemas en la movilidad, entre otros, afectando su calidad de vida. Económicamente, impactan tanto al paciente como a las instituciones de salud si se presentan infecciones o dehiscencias quirúrgicas, ya que implica la prolongación de estancias hospitalarias, el consumo de antibióticos y analgésicos adicionales.

La cicatrización de heridas cutáneas ya sean agudas o crónicas, representa diversos desafíos en cuidados y tratamientos adecuados que favorezcan especialmente la reparación tisular. En México, se han utilizado de manera empírica y de generación en generación diversas especies de plantas para el alivio de ciertos malestares comunes. *Dysphania ambrosioides*, conocida en México como Epazote, es utilizada en la medicina tradicional por sus virtudes curativas en diversos padecimientos incluida la cicatrización de heridas.

Los avances biotecnológicos aplicados a las ciencias de la salud enfocados en la búsqueda de un apósito eficaz ha mostrado grandes avances, en particular, la nanotecnología que ha dado excelentes resultados en la reparación de tejidos, estos apósitos además de ser novedosos, de fácil fabricación y de bajo costo, pueden ser combinados con materiales de origen natural potenciando su efectividad, por ello en este trabajo se evaluó el efecto cicatrizante de membranas poliméricas nanoestructuradas de polivinilpirrolidona dopadas con extractos de *Dysphania ambrosioides* como un apósito en la curación de heridas de un modelo murino semi alopécico.

III. HIPÓTESIS

Las membranas nanoestructuradas a base de Polivinilpirrolidona (PVP) electrohiladas con extracto completo de *Dysphania ambrosioides* usadas como apósitos de curación avanzada y aplicadas a heridas cutáneas actuarán mejorando y acelerando el proceso de cicatrización, proporcionando un soporte adecuado para que las células se adhieran, proliferen y diferencien, desarrollando una mejor estructura del tejido cicatricial, a su vez evitando infecciones por patógenos debido a los compuestos presentes en el extracto.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Analizar el efecto cicatrizante de membranas poliméricas nanoestructuradas dopadas con extractos de *Dysphania ambrosioides*, en heridas cutáneas de un modelo animal semi alopécico (*Rattus norvegicus*).

Objetivos particulares

1. Caracterizar la morfología de las membranas poliméricas nanoestructuradas con extractos de *Dysphania ambrosioides* y sin extracto, usando microscopio electrónico de barrido (SEM).
2. Cuantificar el cierre de las heridas con y sin tratamientos mediante la toma de fotografías convencionales en días clave (3, 7, 14 y 21) del proceso de cicatrización.
3. Observar la eficacia del tratamiento a base de membranas poliméricas nanoestructuradas de PVP combinadas con extractos *Dysphania ambrosioides* mediante análisis histológico del tejido cicatricial.
4. Comparar la eficacia en el proceso de cicatrización de las membranas nanoestructuradas dopadas con compuestos fenólicos de *Dysphania ambrosioides* en comparación con las membranas dopadas con extractos completos.

V. METODOLOGÍA

Diseño experimental

Consistió en un modelo factorial anidado, en el cual se manejaron 12 ratas macho (n=12) semi alopécicas (*Rattus norvegicus*) cepa Nude con un peso entre 200 a 250 gr, a las cuales se les indujo 3 heridas circulares de aprox. 1 cm², de espesor completo (quitando epidermis, dermis e hipodermis) y en arreglo triangular sobre la región dorsal de cada organismo. Se dividieron a los organismos en 2 grupos; de 1-6 y 7-12 y se aplicaron diferentes tratamientos como se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2. Aplicación de diferentes tratamientos de acuerdo con el bloque y la localización de las heridas.

Grupos	Localización de la herida	Tratamiento administrado	Grupo de heridas
I (Ratas 1-6)	Superior izquierda	Membranas de PVP (7%)	MP
	Superior derecha	Membranas de PVP (5%) dopadas con extracto completo de <i>D. ambrosioides</i> (5%)	MPEC
	Inferior	Ninguno (Control)	C
II (Ratas 7-12)	Superior izquierda	Extracto completo de <i>D. ambrosioides</i> disuelto en H ₂ O destilada	EC
	Superior derecha	Membranas de PVP (5%) dopadas con extractos fenólicos de <i>D. ambrosioides</i> (5%)	MPF
	Inferior	Ninguno (Control)	C

Obtención de apósitos

Los extractos completos de *Dysphania ambrosioides* y las membranas de PVP dopadas con extractos de *D. ambrosioides* fueron proporcionados por el Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA) del Instituto Politécnico Nacional, campus Tlaxcala, elaborados por el maestro Jonathan Hillel Cruz San Juan.

El extracto completo de *D. ambrosioides* se obtuvo a partir de una maceración hidroalcohólica del material vegetal seco en metanol y agua destilada con relación 1:1, posteriormente se pasó por un proceso de liofilización. Las membranas fabricadas con nanofibras electrohiladas se elaboraron con el polímero PVP al 7% (Figura 9), las membranas con extracto completo de *D. ambrosioides* se elaboraron con 5% de PVP y 5% de extracto completo. Por último, las membranas fabricadas con compuestos fenólicos se elaboraron con 5% de PVP y 5% de la fracción fenólica la cual se obtuvo mediante la disolución del extracto completo liofilizado en una primera disolución de agua destilada y metanol 1:1 y una segunda disolución de acetona y metanol 1:1.



Fig. 9. Membrana polimérica nanoestructurada de Polivinilpirrolidona (PVP) al 7% fabricada por técnica de electrohilado sobre papel aluminio.

La morfología de las membranas fabricadas con PVP (Figura 9) y dopadas con extracto completo o fenólico de *D. ambrosioides* se observaron mediante SEM en el Centro de Investigación en Fisicoquímica de Materiales de la BUAP. Se midió el diámetro de 100 fibras y el área de 100 poros aleatoriamente a partir de las imágenes obtenidas utilizando el software ImageJ.

Modelo experimental

El protocolo de investigación con biomodelos de ratas semi alopecicas (*Rattus norvegicus*) cepa Nude fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL), con numero de proyecto VIEP/0497/2022. Previo a la investigación el bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, nos capacitó en el manejo y vías de administración de animales de laboratorio.

Para observar el proceso de cicatrización usando los tratamientos proporcionados; se manejaron un total de 12 ratas macho (*R. norvegicus*) en buen estado de salud con un peso de 200 a 250 gr, los cuales se encontraban en condiciones estándar de bioterio con ciclos de luz/obscuridad 12/12, temperatura de 18-26°, intensidad de luz 85 lx, espacio de 150 cm² por cada 200 gr de peso, sin restricciones de agua y comida, como lo marca la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

Inducción de las heridas cutáneas

Antes de la cirugía los organismos fueron marcados en la cola con marcador indeleble de manera aleatoria otorgándoles un número (1 -12).

Los 12 modelos experimentales fueron anestesiados vía intraperitoneal con 0.20 ml de Ketamina-Xilacina (ketamina (100 mg/ml) 0.375 ml, xilacina (100mg/ml) 0.05 ml y solución salina (NaCl 0.9%) 0.575 para 1 ml) por cada 100 gr de peso. Una vez anestesiados se revisó que los animales quedaran inconscientes mediante la ausencia de reacción a la aplicación de gotas oculares, para iniciar con el procedimiento quirúrgico; realizado en condiciones de esterilidad.

Se ubicaron las últimas costillas flotantes de la región dorsal y se marcaron tres círculos de 1 cm de diámetro con separaciones de aproximadamente 1 cm en arreglo triangular como se muestra en la Figura 10. A. Posterior a esto se utilizó una tijera curva estéril para cortar los círculos antes marcados de manera manual, realizando heridas quirúrgicas de espesor completo (quitando epidermis, dermis e hipodermis) de 1 cm de diámetro aproximadamente (Figura 10.B).

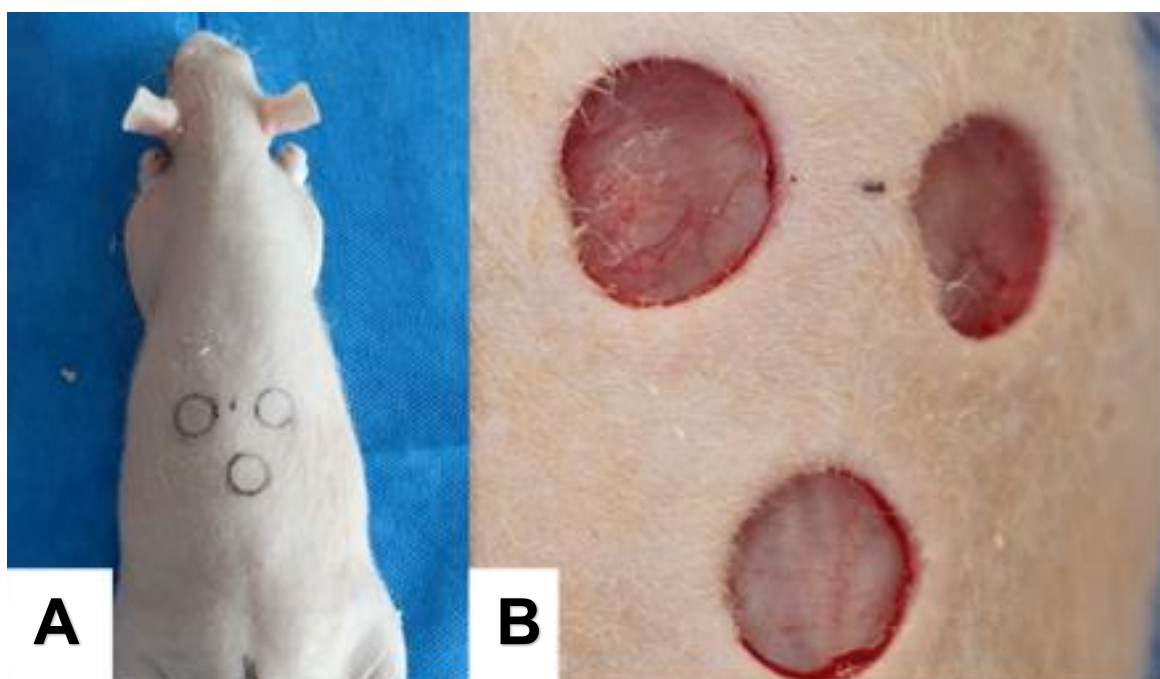


Fig. 10. Marcaje de tres círculos de 1cm de diámetro con 1cm de separación entre ellos ubicados en el dorso de *R. norvegicus* (A). Imagen de las tres heridas expuestas de espesor completo en arreglo triangular después de la intervención quirúrgica (B).

Posteriormente, se pasaban a los organismos a un colchón térmico estéril con la finalidad de mantener su temperatura corporal y evitar su muerte por hipotermia, una vez que se revisó el estado físico de las ratas se procedió a aplicar los tratamientos cicatrizantes.

Para la aplicación de las membranas, estas se cortaron de un tamaño aproximado al de la herida (1 cm² aprox.) con tijeras estériles, despegándolas del papel aluminio y aplicando en la zona de la herida, como se observa en la Figura 11.



Fig. 11. Aplicación de la membrana de PVP dopada con extractos completos de *D. ambrosioides* aproximado al tamaño la herida superior derecha (1 cm² aprox.).

Se dividió a los organismo en dos grupos (6 ratas en cada uno). De la rata 1 a la 6 se les aplicaron los siguientes tratamientos:

En las heridas superiores izquierdas se colocaron membranas de PVP sin extracto denominando a este grupo de heridas “**MP**”. Posteriormente, en la herida superior derecha se aplicaron las membranas de PVP dopadas con extracto completo de *D. ambrosioides*, a estas heridas se les denomino grupo “**MPEC**”. En las heridas Inferiores (ultima herida) no se agregó ningún tratamiento para funcionar como controles, llamándolo entonces grupo “**C**” (Figura 12).

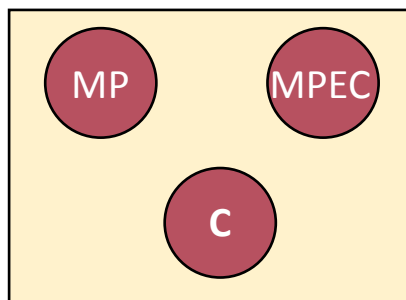


Fig. 12. Imagen ilustrativa de la distribución de tratamientos de la rata 1 a 6.

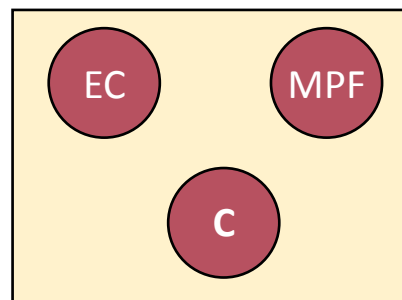


Fig. 13. Imagen ilustrativa de la distribución de tratamientos de la rata 7 a 12.

Para las ratas 7 a 12 los tratamientos se aplicaron en el siguiente orden (Figura 13):

Con ayuda de una micropipeta (1000µl) se agregaron 200 µl de extracto completo de *D. ambrosioides* disuelto en agua destilada a las heridas superiores izquierdas (Figura 14) llamando a este grupo **“EC”**, posteriormente en las heridas de la parte derecha se emplearon membranas de PVP elaboradas con extractos de compuestos fenólicos de *D. ambrosioides*, a estas heridas se les llamo grupo **“MPF”**. Por último, a las heridas restantes (parte inferior) no se les agrego algún tratamiento por lo cual funcionaron como controles, grupo **“C”**.

Una vez aplicados estos tratamientos a las ratas se regresaron a sus cajas en el bioterio y se revisaron las heridas durante 21 días en días específicos antes señalados (3, 7, 14 y 21).



Fig.14. Aplicación de 200 μ l de extracto de *D. ambrosioides* a las heridas del grupo “EC”.

Obtención de biopsias para análisis

Para la obtención de las biopsias se eligieron dos ratas al azar de cada bloque en los días 7, 14 y 21. Después de llevarse a cabo la eutanasia por cámara de CO₂ se tomaron biopsias del tejido cicatricial de cada organismo, con un margen de aproximadamente 1 cm alrededor de la herida con ayuda de bisturí y tijeras.

Cada biopsia se fijó en paraformaldehído al 4%, individualmente, en viales de vidrio durante aproximadamente 2 semanas. Posteriormente, se deshidrataron con diferentes concentraciones de alcoholes en días consecutivos; 1er cambio: alcohol al 70%, 2do y 3er cambio: alcohol al 96%, 4to y 5to cambio: alcohol absoluto. Por último, se sumergieron en cloroformo para aclarar las muestras durante 24 hrs y se pasaron a parafina líquida durante aproximadamente 2 hrs en horno de inclusión a 55° C, posterior a esto se incluyeron en bloques de parafina con ayuda de moldes de silicón como se observa en la Figura 15.



Fig. 15. Inclusión de biopsias en bloques de parafina liquida a 55°C, con ayuda de moldes de silicón.

Cortes histológicos

Después de una semana, los bloques se despegaron del molde y se etiquetaron, así se procedió a realizar cortes histológicos con ayuda de un microtomo de rotación marca “Leica” (Figura 16. A), obteniendo cortes de 20 μm de grosor (Figura 16. B) que se colocaron en un baño de flotación a una temperatura de 40 a 45°C, con la finalidad de extender el tejido y montarlo en portaobjetos cubiertos de agar al 4% para adherir la muestra al vidrio.

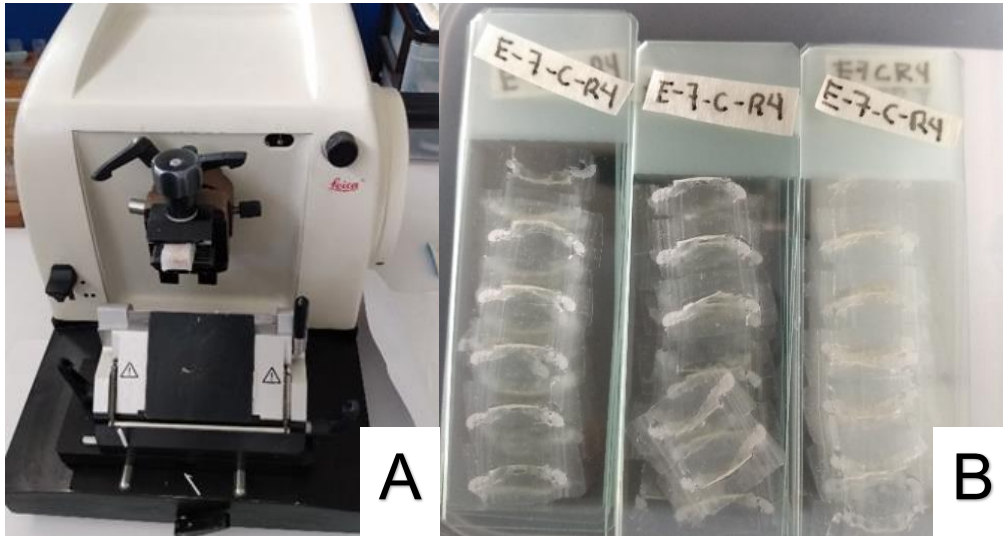


Fig. 16. A) Microtomo de rotación “Leica”, B) Laminillas con cortes de tejido cicatricial de 20 µm de grosor.

Tinción Hematoxilina & Eosina

Los cortes histológicos fueron teñidos con la técnica Hematoxilina-Eosina (Figura 17). Después de desparafinar e hidratar, se procedió a teñir con el colorante de origen natural Hematoxilina de Harris (Hycel Cat. 738) el cual se encarga de teñir los núcleos celulares de color azul y a su vez con Eosina al 1% (20 ml de H₂O y 80 ml de etanol al 96%), que es un colorante ácido el cual se encarga de teñir las estructuras citoplasmáticas y los tejidos conectivos en varios tonos de rojo. Por último, se realizaron pasos de lavado (H₂O destilada) y deshidratación (etanol a diferentes concentraciones) para retirar el exceso de estos colorantes. Inmediatamente después de la tinción se colocó resina sintética (Entellan) a la laminilla y un cubreobjetos para poder observarla al microscopio de campo claro.



Fig. 17. Tren de tinción de técnica Hematoxilina-Eosina el cual consiste en una serie de diferentes pasos a diferentes tiempos para teñir cortes histológicos.

Análisis morfológico del proceso de cicatrización

Se tomaron fotografías convencionales de las heridas con ayuda de una cámara digital marca Sony réflex semiautomática con nivel de iluminación indirecta, distancia variable y en posición de cámara a 90°, utilizando un margen graduado alrededor de la herida (1.4 x 1.4 cm). Las imágenes obtenidas fueron procesadas utilizando el software ImageJ® 1.52p (Ferreira y Rasband, 2012), en el cual se pudo cuantificar el área de las heridas y realizar histogramas de superficie para observar el cierre paulatino de las mismas por contracción durante los días de observación.

El proceso de cuantificación del área consistió en establecer una escala de 1 cm en la sección “set scale”, y con la sección “polygon selections” se trazó un perímetro alrededor de la herida, posteriormente se utilizó el comando “ctrl + M” para obtener las áreas de las heridas como se puede observar en la Figura 18. Los promedios de las áreas de las heridas por tratamiento en los días clave (0, 3, 7, 14, 21) fueron expresados en porcentaje.

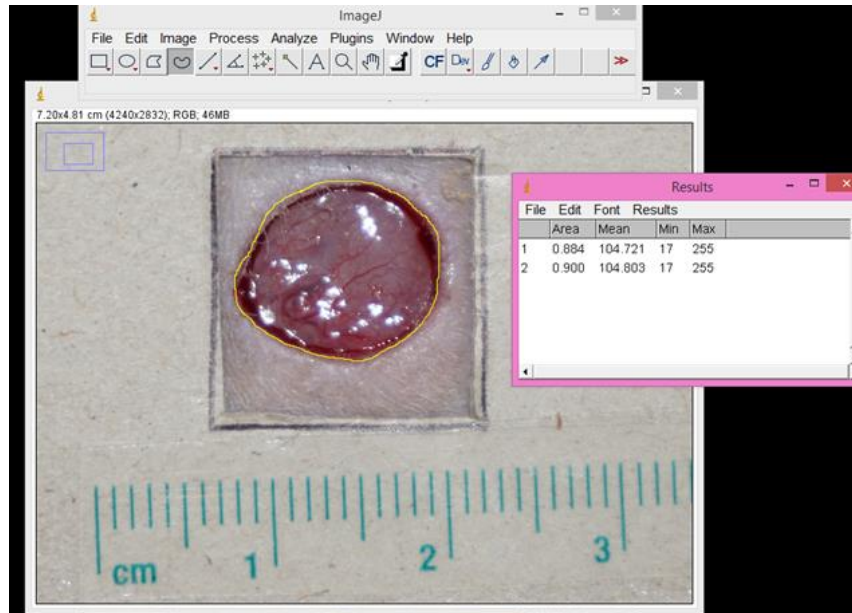


Fig. 18. Obtención del área de la herida utilizando el programa ImageJ.

Los histogramas en 3D se realizaron con la finalidad de comparar la tonalidad del tejido cicatricial con respecto a la tonalidad de la piel sana circundante. El procedimiento consistió en establecer una escala de 1 cm en la sección “set scale”, posteriormente se procedió a descomponer la imagen en los tres colores primarios (verde, azul y rojo) en la sección “make composite”, después se eligió el color verde y se pasó la imagen a escala de grises en la sección “channels tool”, más adelante se graficó la intensidad de los pixeles de la imagen en la sección “surface plot” como se muestra en la Figura 19.

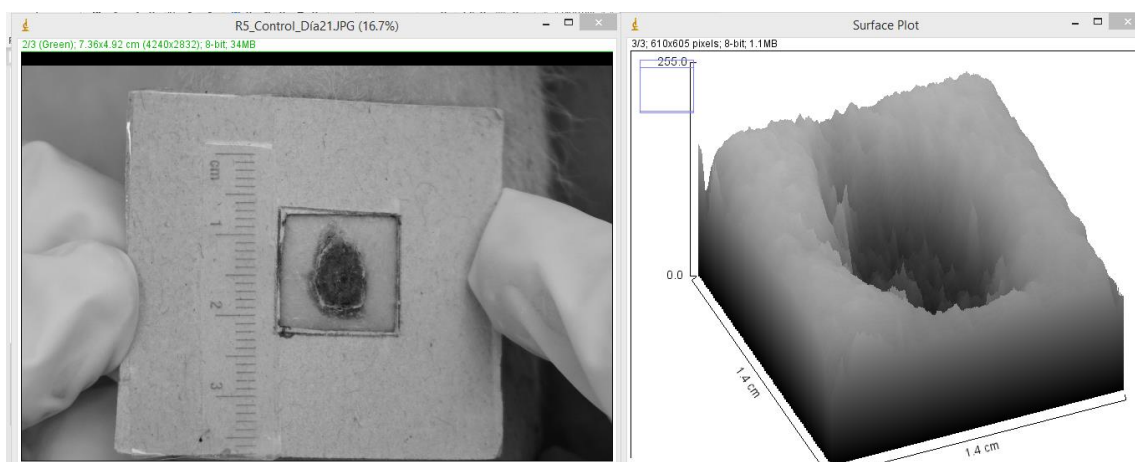


Fig. 19. Obtención de histograma de superficie del área de la heridas comparando sus tonalidades con respecto a las de la piel sana circundante utilizando el programa ImageJ.

VI. RESULTADOS

Morfología de las membranas por SEM

La morfología de las membranas de PVP vistas por SEM mostraron un arreglo aleatorio (Figura 20), con un diámetro promedio de fibra 922.66 ± 188 nm y área promedio de poro de 1783.4 ± 739.1 nm².

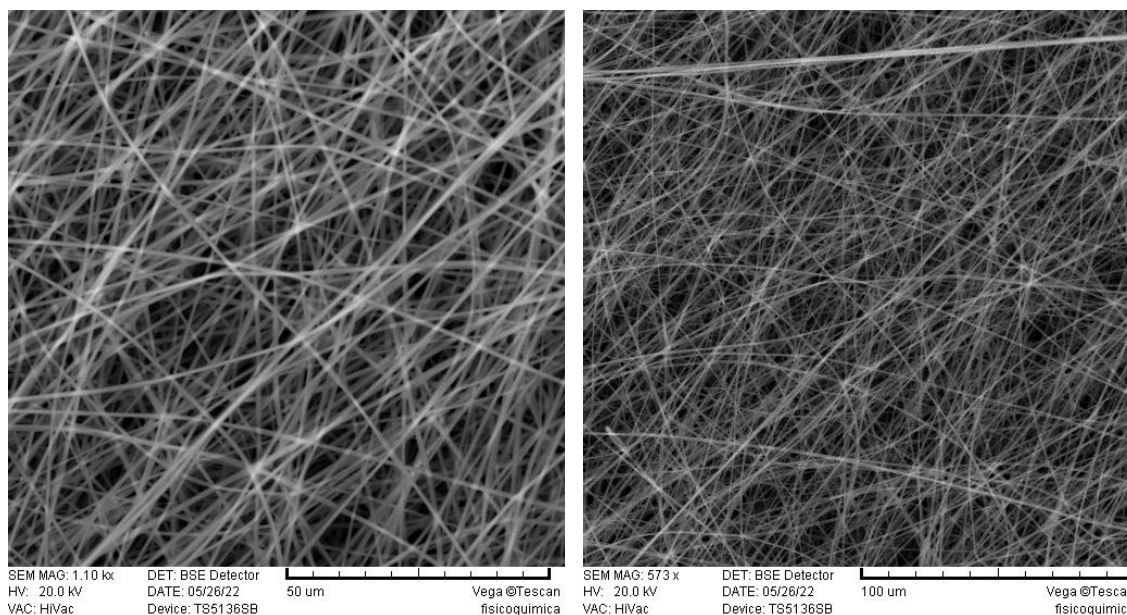


Fig. 20. Micrograffías de las membranas de PVP sin extractos vistas por SEM a 1100x y 573x respectivamente.

La morfología de las membranas de PVP electrohiladas con extractos completos de *D. ambrosioides* (Figura 21) presentaron un arreglo aleatorio con un promedio de diámetro de fibra de 503.39 ± 129.2 nm y un área promedio de poro de 3560 ± 2580 nm², también se puede observar la presencia de extractos aglomerados en las membranas y una mayor porosidad.

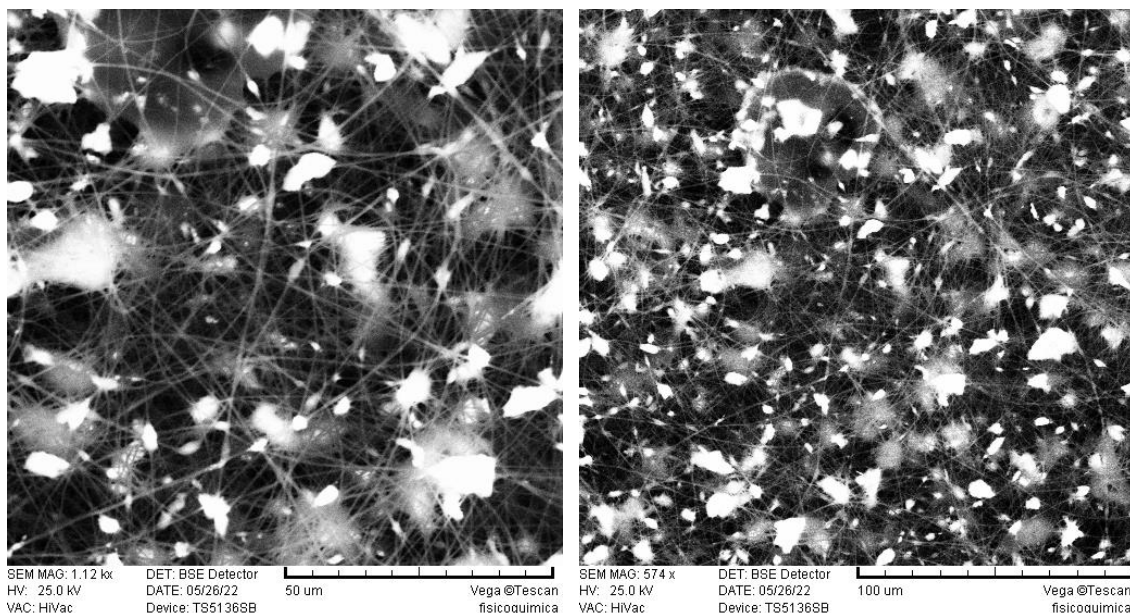


Fig. 21. Micrografías de la membrana de PVP dopada con extractos completos de *D. ambrosioides* vistas por SEM a 1120x y 574x respectivamente.

El arreglo presentado en las membranas de PVP con compuestos fenólicos de *D. ambrosioides* (Figura 22) mostró un diámetro promedio de fibra de 412.1 ± 175 nm siendo esta fibra más delgada y un tamaño promedio de poro de 167.2 ± 77.9 nm², en esta membrana se presenta menor porosidad comparado con la membrana combinada con extractos completos.

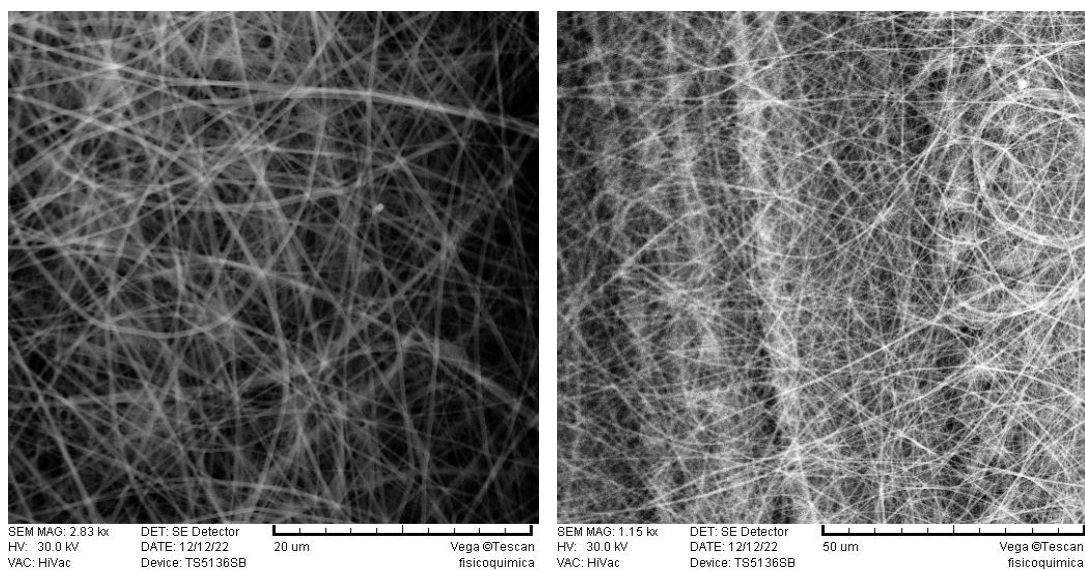


Fig. 22. Micrografías de la membrana de PVP dopada con extractos fenólicos de *D. ambrosioides* vistas por SEM a 2830x y 1150x respectivamente.

Seguimiento del cierre de heridas

Fotografías convencionales

Mediante fotografías convencionales se consiguió dar seguimiento al proceso de cicatrización de las heridas con diferentes tratamientos, estas imágenes se tomaron en los días 0, 3, 7, 14 y 21 como se puede observar en la Figura 23.

Expresado en porcentaje, el día 0 (Intervención quirúrgica) corresponde al 100% de herida abierta, durante los días siguientes la herida se redujo dependiendo del tratamiento utilizado. En todas las heridas se observó reducción del área, sin embargo, la contracción se dio en menor tiempo en las heridas donde se aplicaron tratamientos en comparación con las heridas del grupo control.

Para el día 3 y 7 fue visible la presencia de costras en todas las heridas, siendo más abultadas en los grupos **“C”** y **“EC”**, todas las heridas presentaban un color rojizo en sus perímetros, lo que indicaba que el proceso de cicatrización aún se encontraba en fase inflamatoria. A partir del día 7 se observó una notoria reducción de la herida en los grupos **“MP”** y **“MPEC”**, seguidos de los grupos **“EC”** y **“MPF”** donde la reducción fue menos notoria.

En el día 14 se pudo observar una cicatriz pequeña e imperceptible en los grupos **“MP”** y **“MPEC”** con textura similar a la piel sana. Los tratamientos restantes (**“EC”** y **“MPF”**) presentaron una costra pequeña de color rojizo y el control una costra voluminosa e irregular.

Finalmente, en el día 21 en los grupos **“MP”** y **“MPEC”** se observó un cierre de herida completo con una cicatriz imperceptible que tuvo el mismo color y textura que la piel circundante. En el grupo **“EC”** aún se apreciaba el color rosa de la epidermis inmadura lo que indicaba que la cicatrización se encontraba en etapa proliferativa. El grupo **“MPF”** presentó una pequeña costra rojiza mientras que el control tenía para este día una costra abundante de color marrón.

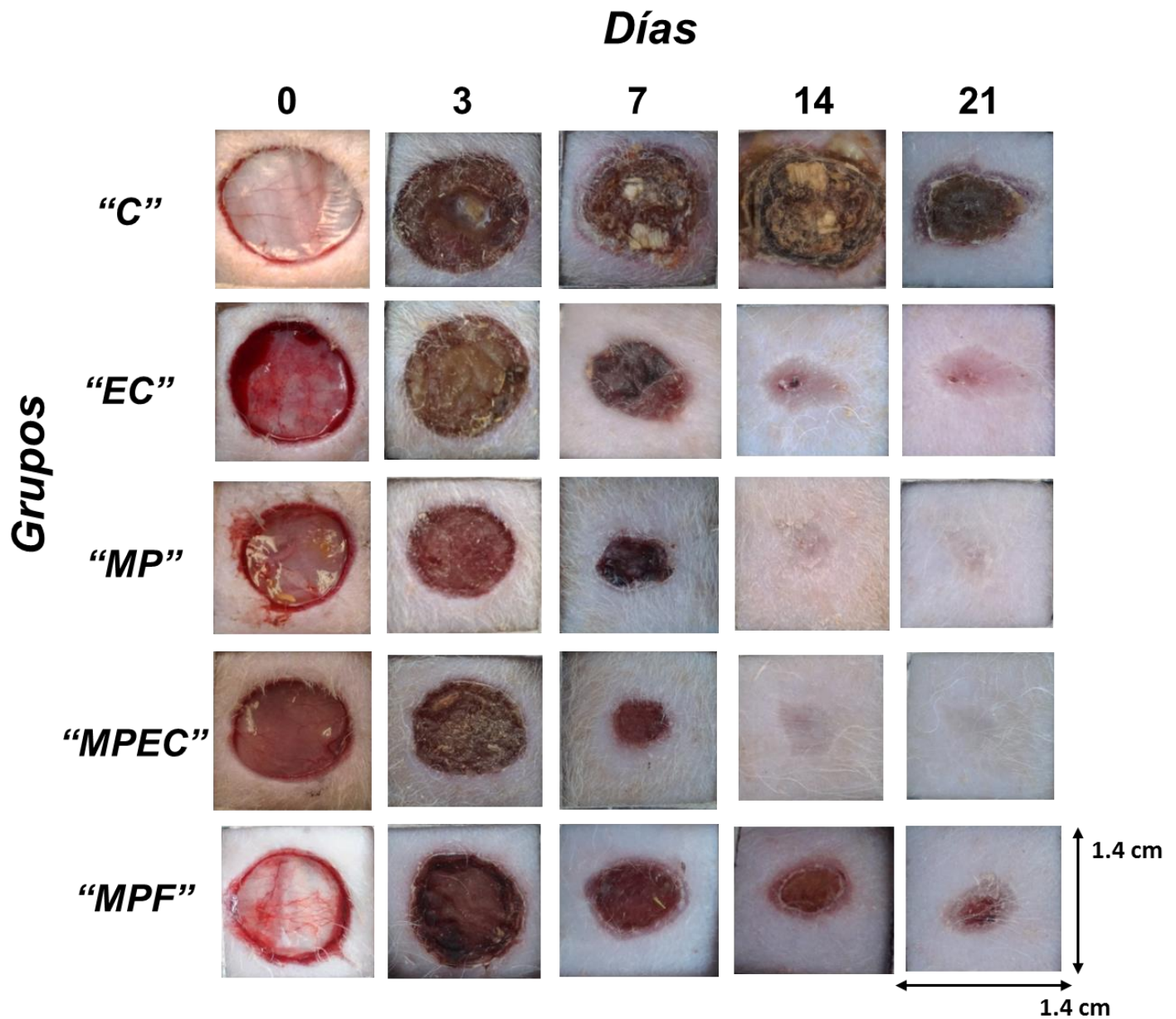


Fig. 23. Matriz de fotografías convencionales de la evolución del cierre de las heridas con diferentes tratamientos durante 21 días. Tomadas con cámara Sony réflex semiautomática con nivel de iluminación indirecta, distancia variable y en posición de cámara a 90°.

Se realizó una gráfica que muestra el porcentaje de área abierta de las heridas durante 21 días (Figura 24). La tendencia de los grupos **“MP”** y **“MPEC”** fue similar durante todo el proceso de cicatrización, el mayor porcentaje de cierre de herida se

tuvo durante los días 3 a 7, donde el grupo **“MPEC”** disminuyó de un 79.2 % a 23.6 % de área de herida expuesta, sin embargo, se mostró un cierre de herida completo solo para este grupo en el día 21. El grupo **“MPF”** y **“EC”** tuvieron un 4.2 % de herida abierta para el día 21, dejando por último al grupo control el cual para el día 21 tuvo un porcentaje de herida abierta del 46.4 % lo que indicó que el tratamiento más eficaz para acelerar el cierre de la herida fue el del grupo **“MPEC”** (membranas de PVP dopadas con extracto completo de *D. ambrosioides*) en comparación con los demás tratamientos utilizados y el control.

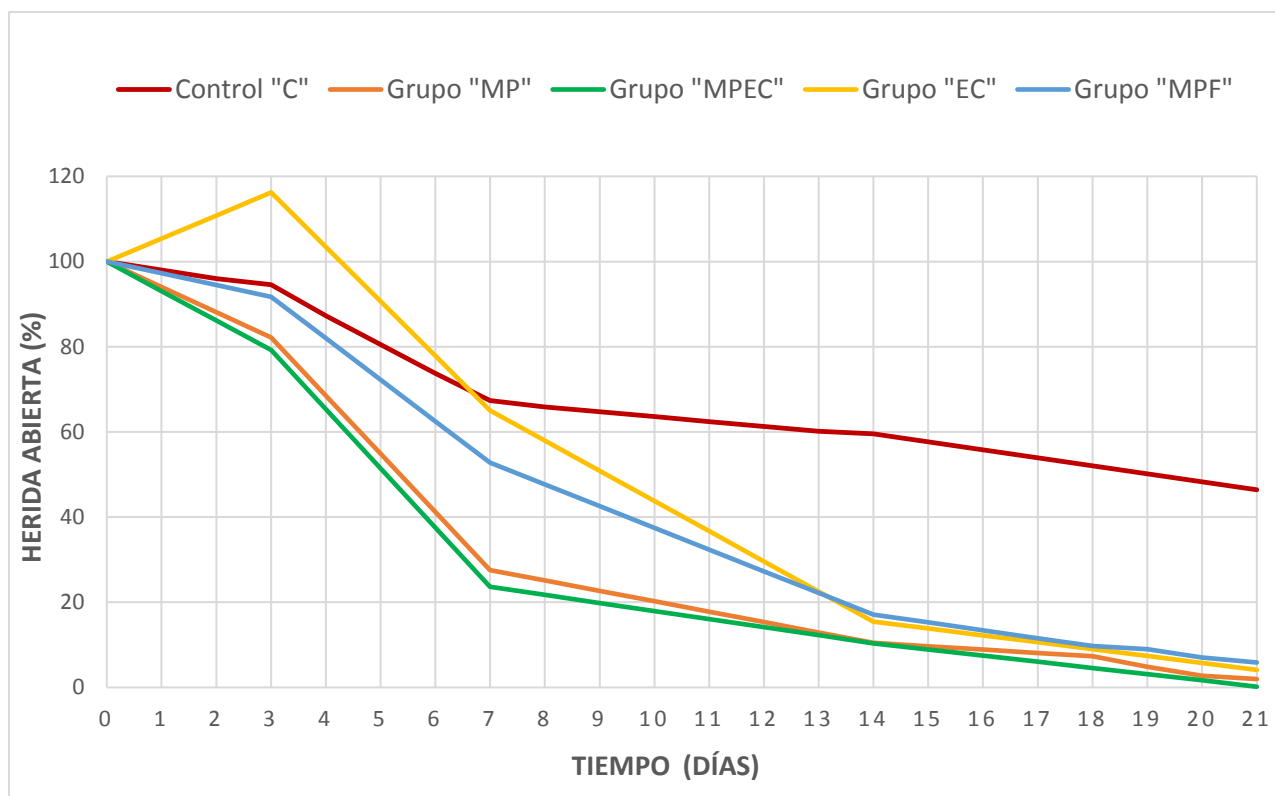


Fig. 24. Cierre de la herida en función del tiempo con diferentes tratamientos durante 21 días.

Análisis estadístico

Recopilados los datos del área abierta de los diferentes grupos de heridas en los días 0, 3 y 7, se aplicó la prueba estadística Kruskal-Wallis y posteriormente se realizó el estadístico U de Mann-Whitney. La diferencia se consideró estadísticamente significativa (*) cuando el valor de p fue < 0.05 (Figura 25).

Se compararon los tratamientos utilizados (“**EC**”, “**MP**”, “**MPEC**”, “**MPF**”) contra su respectivo control. En el día 0 se mostró diferencia ($p= 0.031$) para el grupo “**MPF**”. Para el día 3 se observaron diferencias significativas en los grupos “**EC**” ($p= 0.013$) y “**MP**” ($p= 0.02$), lo cual sugiere que las áreas de las heridas tratadas con estos apósitos cambiaron considerablemente a comparación del control comenzando a tener un efecto entre estos días. En el día 7 se mostraron resultados altamente significativos en los grupos “**MP**” ($p= 0.023$) y “**MPEC**” ($p= 0.01$), por lo cual se observó que específicamente estos tratamientos aceleraron significativamente el cierre de las heridas en este día.

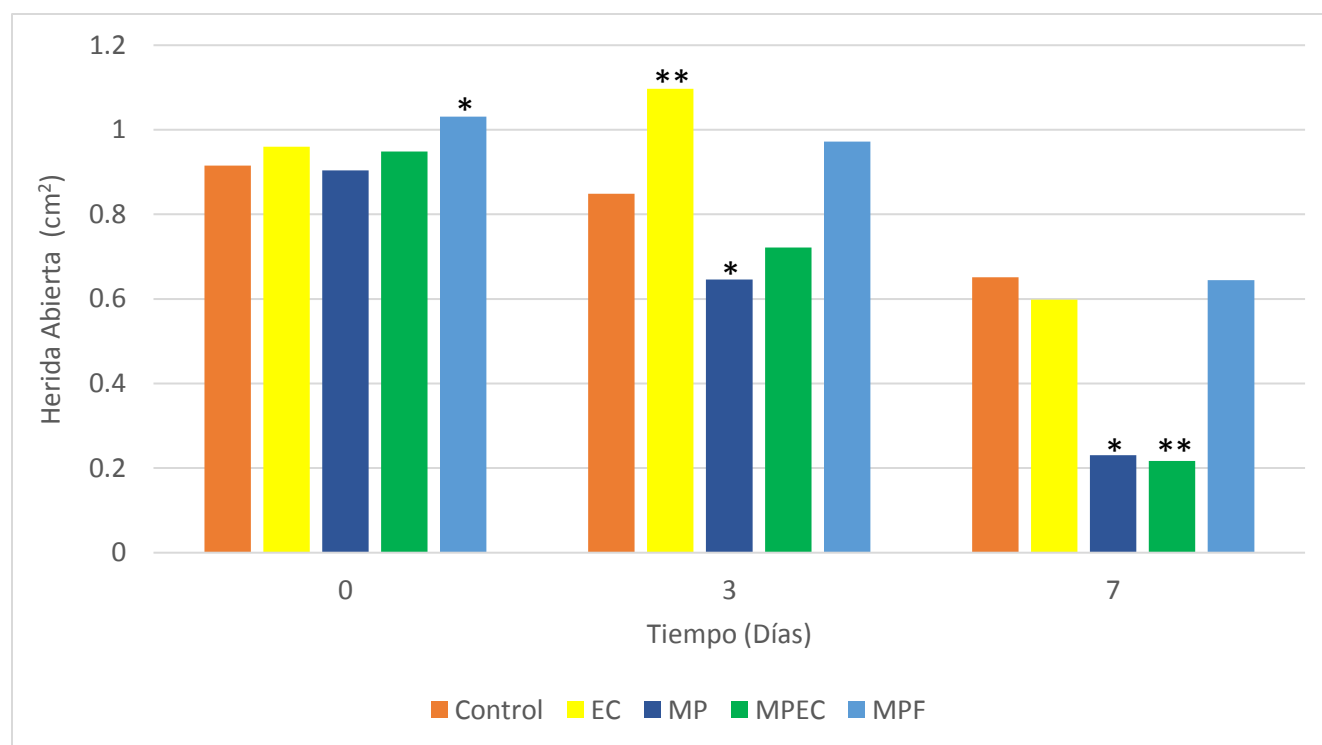


Fig. 25. Cuantificación de herida abierta para los días 0, 3 y 7. Tratamiento vs control, valor de * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$.

Histogramas de superficie

Se realizaron histogramas tridimensionales de superficie a partir de fotografías digitales con la finalidad de comparar el área de la herida con el tejido próximo (sano) mediante la intensidad de la luz de los píxeles en cada imagen, así en la matriz de histogramas se puede ver la reducción de la herida en función del tiempo y el tratamiento utilizado (Figura 26). Se puede observar que las tonalidades de cada histograma cambian del centro a la periferia lo que indica que en el centro se mantiene la herida y a su alrededor se encuentra la piel sana. Para el día 3 se notaron cambios significativos en todos los grupos en la tonalidad del área de la herida en comparación con el área de tejido sano. Para el día 7, en los grupos **“MP”** y **“MPEC”** se comenzó a notar un parecido de tonalidad con el tejido adyacente sano en comparación con las tonalidades de los demás grupos y el control. En el día 14 se observó una mayor similitud de tonalidad en los histogramas de los grupos **“MP”** y **“MPEC”** con el tejido adyacente y ya no se mostró lo que parece una profundidad, en comparación con los grupos **“EC”** y **“MPF”** donde aún se nota el cambio de tonalidad respecto al control. Se puede observar ampliamente que para el día 21 el histograma del grupo **“MPEC”** alcanza una tonalidad uniforme lo que indica que el tejido cicatricial se asemeja al tejido sano próximo, seguido de los grupos **“MP”**, **“EC”** y **“MPF”** que aun muestran cierta diferencia de tono en comparación del control incluso es posible distinguir la separación de tonalidades creando visualmente un espacio de profundidad. Estos resultados nos muestran que en el grupo **“MPEC”** la reepitelización fue mejor obteniendo para el día 21 un tejido estético y uniforme.

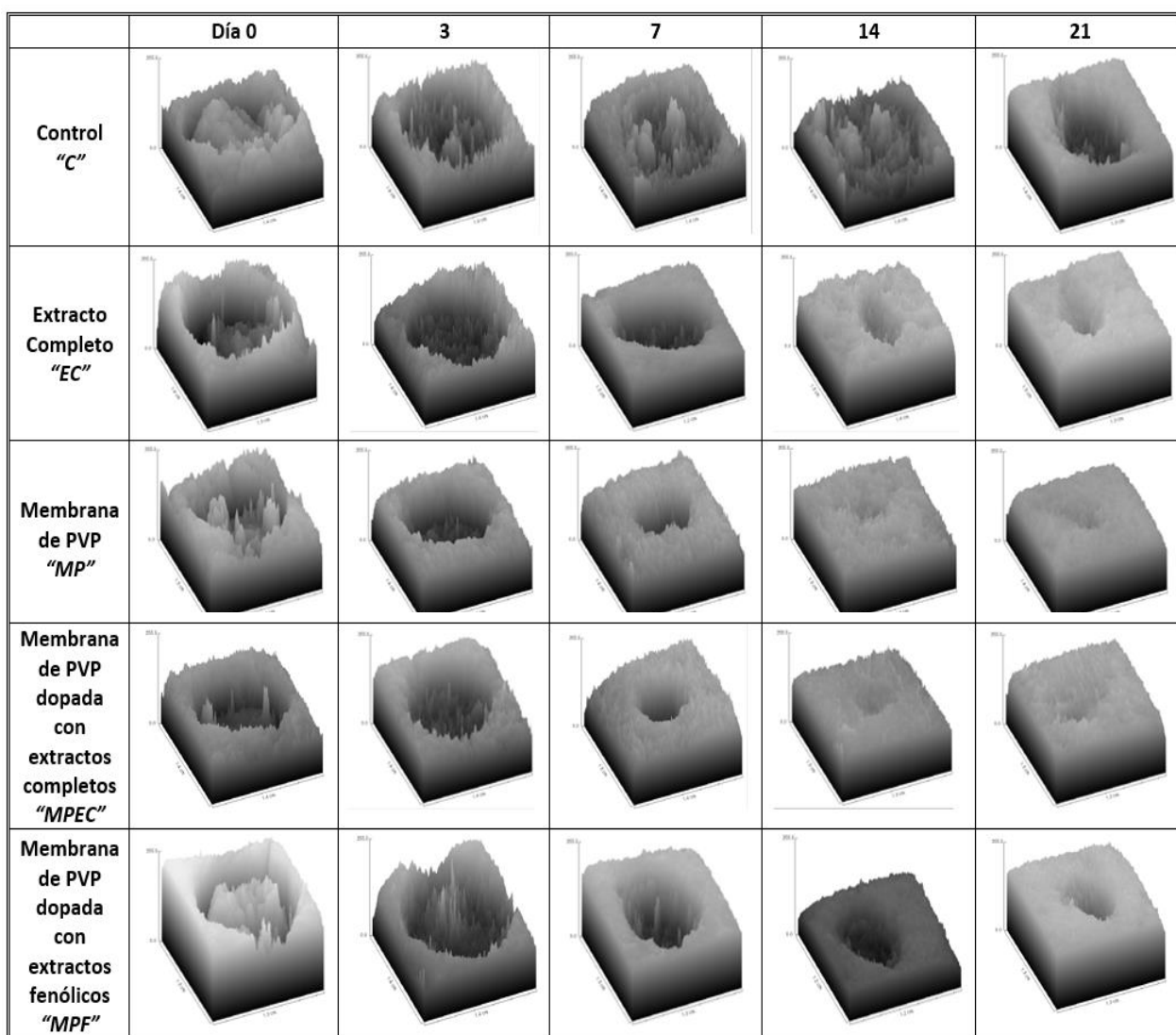


Fig. 26. Matriz de histogramas tridimensionales del proceso de cicatrización con diferentes tratamientos durante 21 días. Creados con el software ImageJ.

Análisis Histológico

Los cortes histológicos del tejido cicatricial de los días 7, 14 y 21 teñidos con la técnica Hematoxilina Eosina (Figura 27) muestran en cual etapa de la cicatrización se encuentra el tejido, el grosor de las capas de la piel y la presencia de anexos cutáneos, que contribuyen al funcionamiento de la piel.

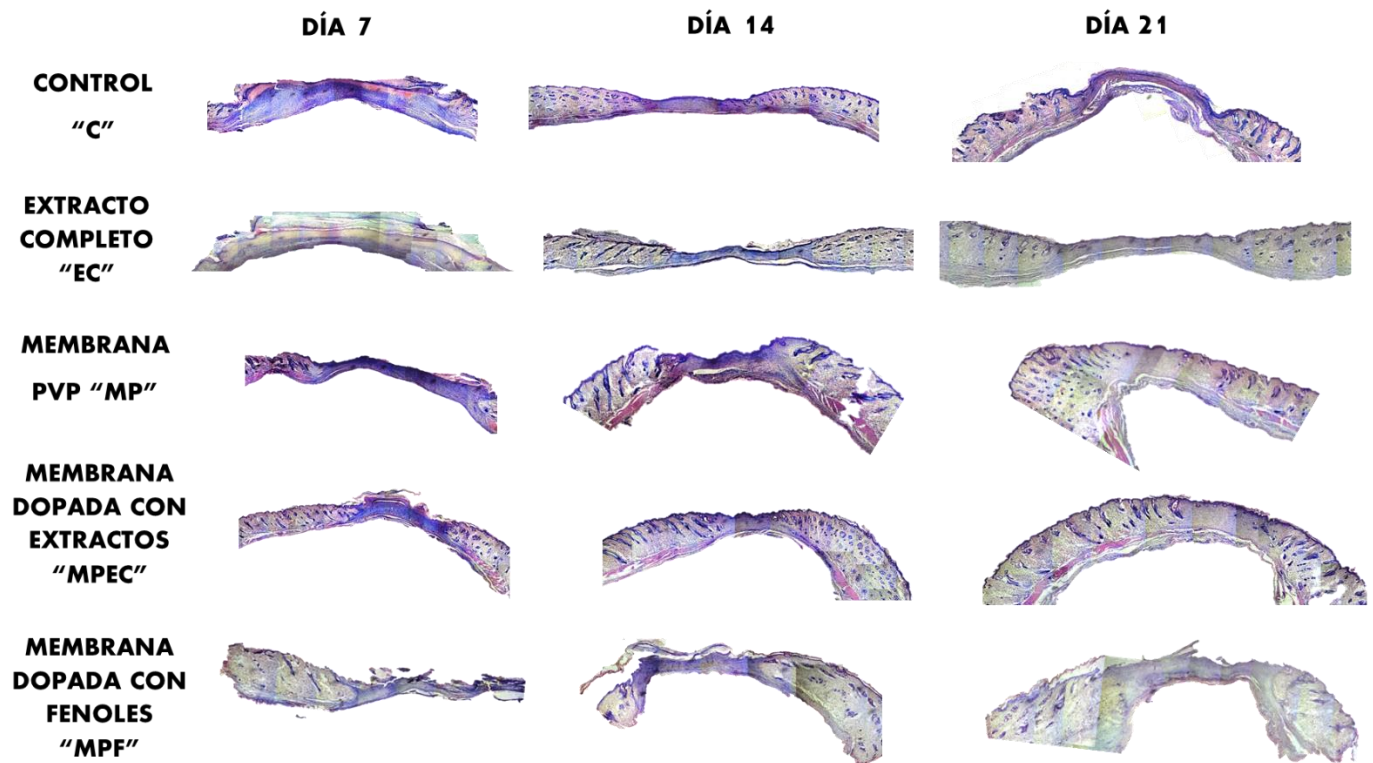


Fig. 27. Matriz de cortes histológicos del proceso de cicatrización con distintos tratamientos (20 µm de grosor, técnica H&E, 5x, microscopio Velab VE-M5LCD).

Seguimiento del día 7

Se puede observar en los cortes histológicos que para este día las heridas se encuentran en etapa proliferativa, sin embargo, se observan diferencias significativas en el grosor del tejido, teniendo una capa de células más gruesa e indiferenciada y restos de costra (Flechas azules) en los grupos **"C"** (Figura 28.A) y **"EC"** (Figura 28.B). Para el grupo **"MP"** (Figura 28.C) se puede observar una pequeña reducción del área de la herida, con una capa de tejido cicatricial muy delgado y no diferenciado, aun se observan restos de costra. En el grupo **"MPEC"** (Figura 28.D) el área de la herida se redujo notablemente, el tejido se encuentra en las etapas de diferenciación y remodelación, se observa una dermis del mismo grosor que el tejido sano circundante, con formación de unidades pilosebáceas

(Flecha amarilla), una epidermis bien definida (Flecha verde), y primordios del estrato corneo (Flecha naranja). En el grupo **“MPF”** (Figura 28.E) se aprecia una capa de tejido cicatricial en etapa proliferativa, delgado y poco diferenciado.

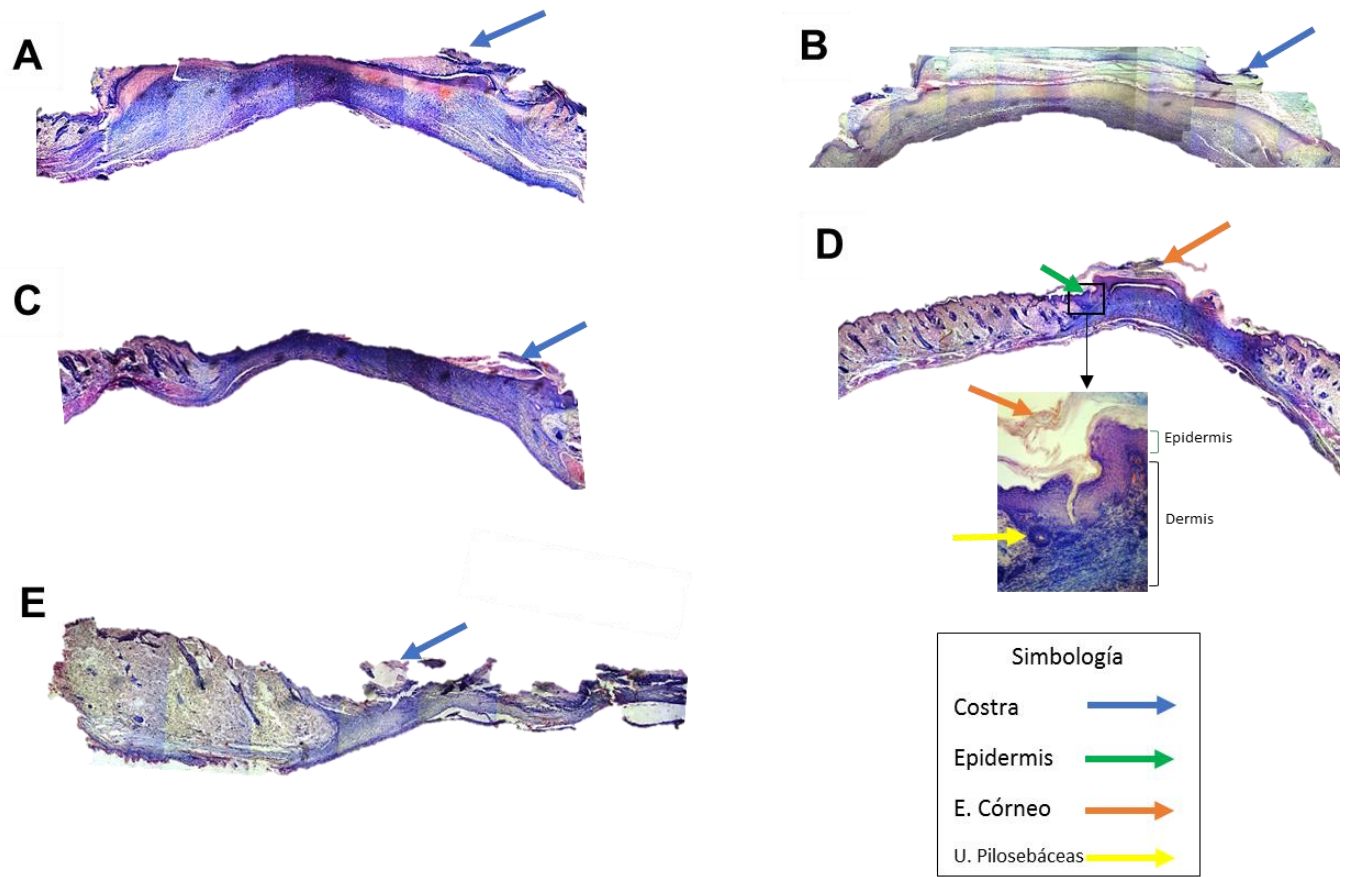


Fig. 28. Cortes histológicos obtenidos el día 7 posterior a la lesión. **A)** Grupo Control **“C”**, **B)** Grupo Extracto **“EC”**, **C)** Grupo Membrana PVP **“MP”**, **D)** Grupo Membrana dopada con extractos completos de *D. ambrosiodes* **“MPEC”** y **E)** Grupo Membrana dopada con compuestos fenólicos de *D. ambrosiodes* **“MPF”**. Cortes transversales de 20 µm teñidos con H&E, 5X.

Seguimiento del día 14

En el día 14, el tejido cicatricial visto en las biopsias se ha diferenciado, hay mayor reducción del área de la herida y se pueden observar las capas principales de la piel, la epidermis está bien delimitada (Flecha verde). El control **“C”** (Figura 29.A) muestra una reducción del área de la herida y un grosor aproximado al de la piel sana. En el grupo **“EC”** (Figura 29.B) no hay reducción significativa del área de la herida, el tejido cicatricial es delgado e indiferenciado en comparación con el control y los demás tratamientos, lo que indica que se encuentra en fase proliferativa. El tejido del grupo **“MP”** (Figura 29.C), presenta vasos sanguíneos de gran calibre que indican la etapa de diferenciación (Flecha roja), es delgado e indiferenciado a comparación del tejido sano. El grupo tratado con membrana dopada de extractos completos de *D. ambrosioides* **“MPEC”** (Figura 29.D) tiene menor área de la herida comparado con los demás tratamientos y el control, además el grosor está próximo a igualarse al de la piel sana que se encuentra próxima a la herida, por último, se puede notar la presencia de unidades pilosebáceas de gran tamaño en los extremos de la herida (Flecha amarilla) y las tres capas de la piel están bien diferenciadas. Finalmente, en grupo **“MPF”** (Figura 29.E) no se ha reducido el área de la herida, persiste una costra, el tejido se encuentra en fase proliferativa, indiferenciado y delgado.

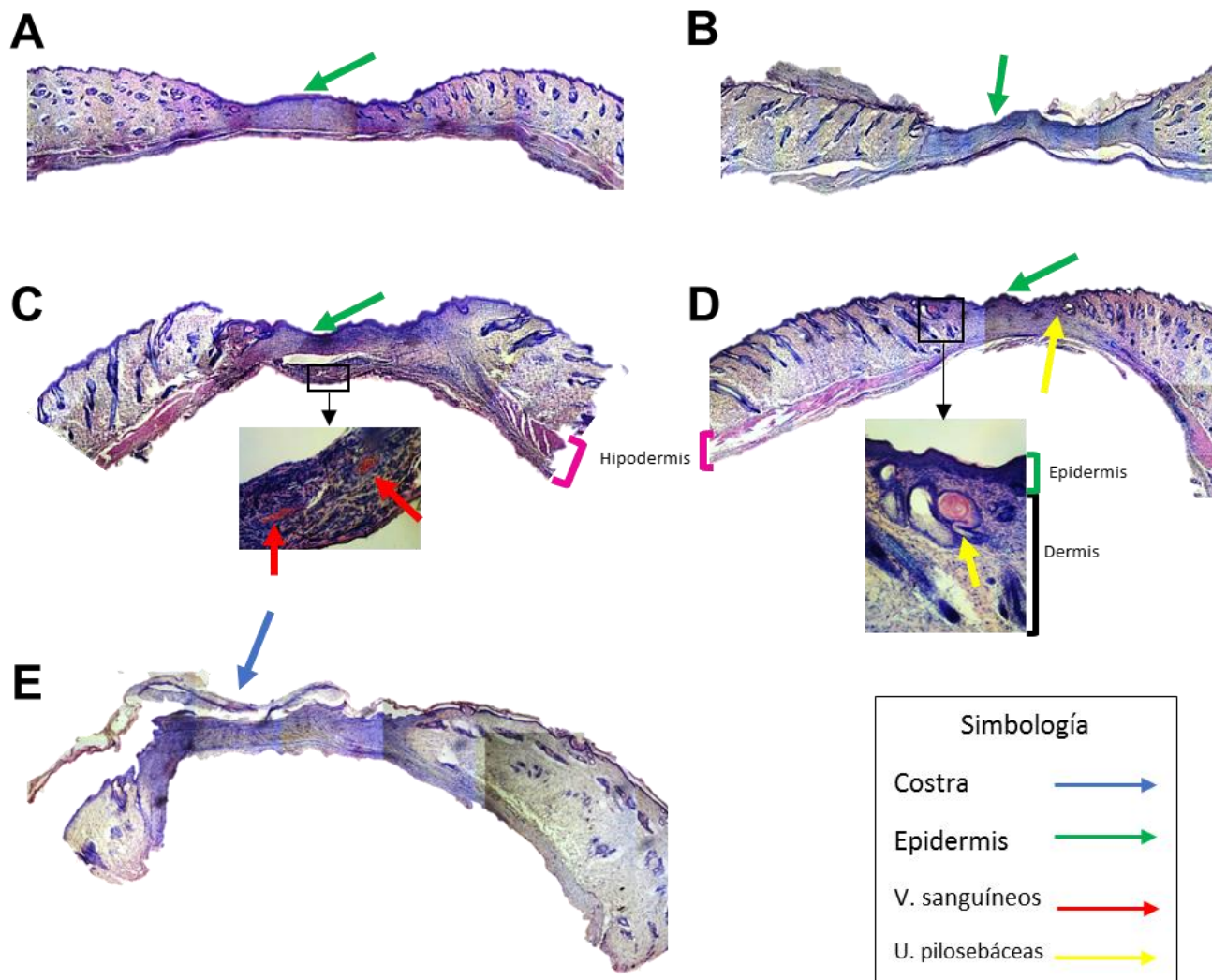


Fig. 29. Cortes histológicos obtenidos el día 14 posterior a la lesión. **A)** Grupo Control "**C**", **B)** Grupo Extracto "**EC**", **C)** Grupo Membrana PVP "**MP**", **D)** Grupo Membrana dopada con extractos completos de *D. ambrosioides* "**MPEC**" y **E)** Grupo Membrana dopada con compuestos fenólicos de *D. ambrosioides* "**MPF**". Cortes transversales de 20 μ m teñidos con H&E, 5X.

Seguimiento del día 21

Por último, todos los grupos han completado el cierre de la herida para el día 21, se puede observar que el área de la herida ha disminuido considerablemente en los grupos ***“MP”*** y ***“MPEC”*** en comparación al control (Figura 30.A). En el grupo ***“EC”*** (Figura 30.B) y grupo ***“MPF”*** (Figura 30.E) la herida aún es grande y presenta tejido delgado e indiferenciado por lo que sigue en etapa proliferativa.

En la herida tratada con membrana de PVP ***“MP”*** (Figura 30.C) se muestra una reducción mayor del área de la herida comparada con el control, presenta un tejido denso similar a la piel circundante sana, se pueden diferenciar claramente las tres capas de la piel, la región de la dermis sigue diferenciándose y hay delimitada presencia de unidades pilosebáceas típicas de la piel.

El grupo ***“MPEC”*** (Figura 30.D) se encuentra entre la fase de diferenciación y remodelación; se distinguen perfectamente la epidermis, dermis e hipodermis de la piel regenerada, que igualan el grosor de las tres capas de la piel sana circundante. En la región de la epidermis se puede notar el comienzo del desprendimiento del estrato corneo (Flecha naranja) por lo cual se infiere que ya están diferenciados el resto de los estratos de la epidermis (granuloso, espinoso y basal). Se muestra una considerable región central de la dermis que continúa diferenciándose, sin embargo, en los extremos de esta zona se aprecian grandes primordios de unidades pilosebáceas (Flechas amarillas). En la última capa de la piel (hipodermis) en la región de la herida se comienzan a observar fibras de la fascia muscular (Flechas rosas), sin embargo a medida que estas se acercan a la piel sana se vuelven más gruesas, en esta misma región se muestran pequeños vasos sanguíneos. Este grupo de heridas sugirió un mejor efecto de regeneración comparado incluso con el resto de los tratamientos.

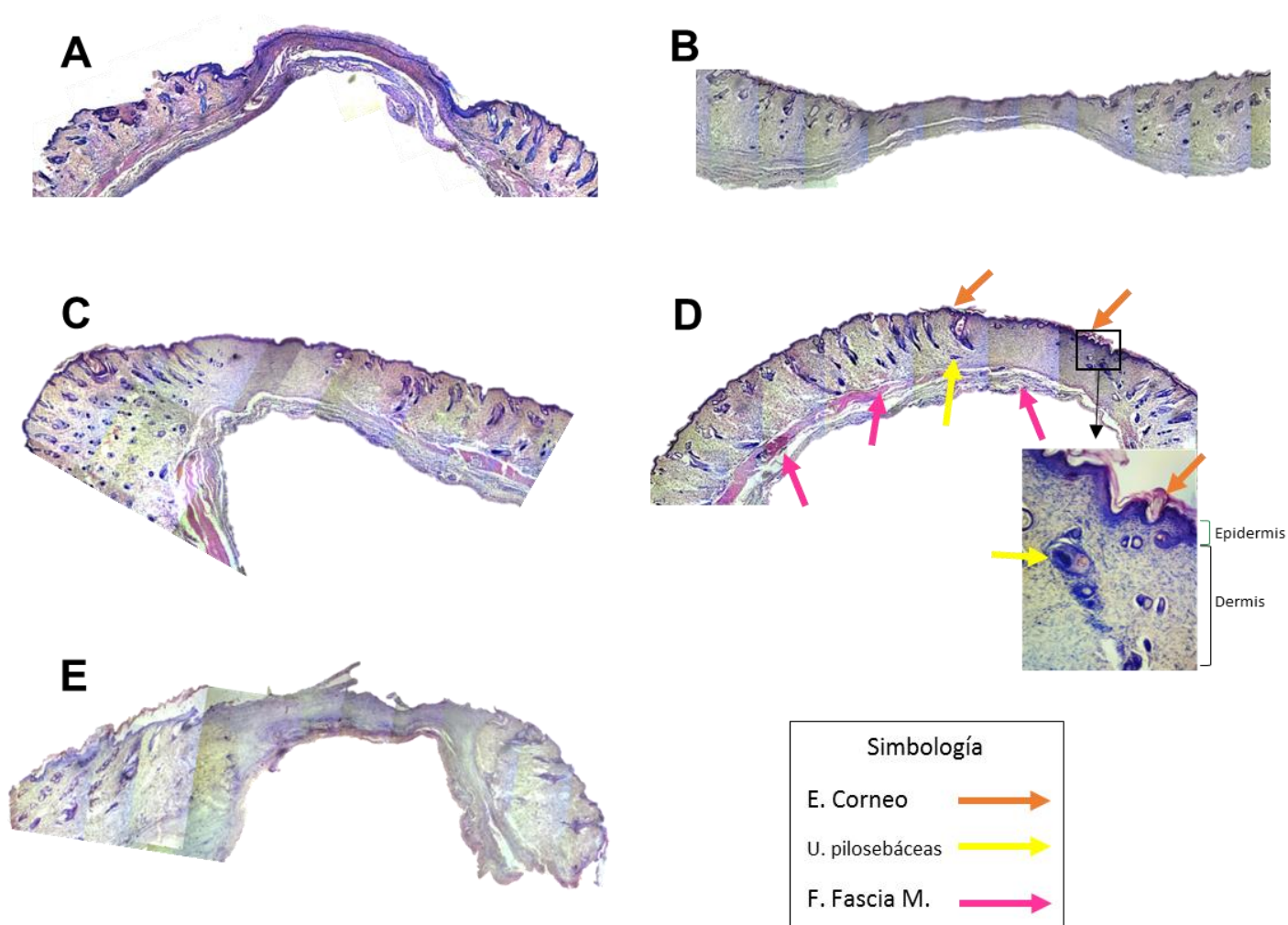


Fig. 30. Cortes histológicos obtenidos el día 21 posterior a la lesión. **A)** Grupo Control “**C**”, **B)** Grupo Extracto “**EC**”, **C)** Grupo Membrana PVP “**MP**”, **D)** Grupo Membrana dopada con extractos completos de *D. ambrosioides* “**MPEC**” y **E)** Grupo Membrana dopada con compuestos fenólicos de *D. ambrosioides* “**MPF**”. Cortes transversales de 20 μ m teñidos con H&E, 5X.

VII. DISCUSIÓN

Los apósitos de la presente investigación interactúan directamente con la herida, reparándola en un menor tiempo, protegen de infecciones y agentes externos a la herida, conservan un ambiente adecuado para la proliferación celular, son adaptables y biocompatibles, se aplican con la mínima incomodidad para el sujeto, sin manipular o afectar la herida, estos apósitos mostraron no ser tóxicos o contaminantes, lo cual indica que se clasifican como apósitos activos eficaces en el tratamiento de heridas cutáneas (Andrades *et al.*, 2004; Valencia-Gómez *et al.*, 2016).

Los diámetros de las fibras electrohiladas del presente trabajo se pueden comparar con lo reportado en trabajos previos. De acuerdo con los resultados de Sriyanti y colaboradores en 2017, se elaboraron fibras de PVP (5%) con un diámetro promedio de 143 ± 38 nm, en el mismo estudio se combinó el polímero PVP (5%) y extracto de pericarpio de mangostán el cual es utilizado por sus propiedades para tratar diferentes malestares incluídas las heridas, el diámetro promedio de estas nanofibras fue de 217 ± 82 nm, estos diámetros de fibra fueron menores a lo reportado en el presente trabajo. Por otra parte, Li y colaboradores en 2022, electrohilaron PVP y aloína que es un derivado del *Aloe vera* y la caracterización de las membranas presentó una superficie lisa, sin aglomeraciones, con un entramado de fibras al azar y un diámetro de fibra promedio de 1460 nm. Otras membranas fabricadas a base de fibras porosas del polímero sintético PCL cargadas con CAM (cloranfenicol) mostraron un diámetro de fibra promedio de 1970 ± 300 nm. Por tanto, se puede asegurar que el diámetro de las fibras electrohiladas en este trabajo fue el adecuado en las membranas de los diferentes tratamientos, las membranas electrohiladas con extractos completos mostraron conglomerados, lo que sugiere que los extractos se agruparon en una especie de esferas y no se adhirieron al polímero actuando como un apósito de liberación prolongada, lo cual es beneficioso ya que se pudo observar la presencia del extracto en la membrana y garantiza una adecuada interacción y soporte a las células del tejido en proliferación.

Estudios han demostrado la eficacia a nivel celular del extracto etanólico de *D. ambrosioides*, los resultados del estudio de Trivellato-Grassi y colaboradores en 2013 exhibieron la eficacia del extracto de esta planta al usarse en el tratamiento de heridas cutáneas inducidas, mostrando una mejor evolución en la reparación tisular a partir del día 19 después de la lesión, sin presencia de infecciones que retrasaran la cicatrización. Los resultados del presente trabajo utilizando el extracto completo de esta planta también presentaron una reducción de la herida de manera significativa a partir del día 7, sin presencia aparente de infecciones.

En el presente trabajo se probó la funcionalidad de una membrana fabricada con PVP y extractos completos de *D. ambrosioides* para la curación de heridas, como se pudo observar en el seguimiento de cierre de heridas, las heridas tratadas con estas membranas para el día 7 comenzaron a mostrar diferencias altamente significativas en el cierre de la herida mostrado en el análisis estadístico, siendo mucho más pequeñas las heridas de este grupo (**“MPEC”**) comparados con los demás grupos y el control. Para el día 14 presentaban una cicatriz imperceptible con textura que se asemejaba a la piel sana circundante, finalmente en el día 21 las heridas de este grupo fueron las únicas que presentaron un cierre de herida completo, con un proceso de cicatrización sin complicaciones, mostrando que es un excelente apósito en el tratamiento de heridas cutáneas.

Estos resultados se pueden comparar con estudios anteriores donde se han reportado apósitos de fibras electrohiladas cargadas con extractos vegetales para la curación y reparación de heridas. Por mencionar algunos, se mostró en un modelo de heridas inducidas en rata que los tratamientos de membranas electrohiladas de PCL/PS/manzanilla (15% de extracto) eran notablemente capaces de curar las heridas hasta un 99 ± 0.5 % después de 14 días posteriores a la lesión (Motealleh *et al.*, 2014); por otro lado, en un estudio reciente de nuestro grupo de trabajo se evaluó el efecto cicatrizante de membranas electrohiladas de PVP dopadas con extractos de *Hamelia patens* en un modelo animal con lesiones inducidas, el cual mostró un cierre de herida completo para el día 21 con ausencia de infecciones y presencia de una cicatriz estética (Cruz-San Juan, 2021). Nuestros resultados vistos

en los histogramas tridimensionales también mostraron que en el grupo tratado con membranas dopadas de extractos de Epazote (Grupo “**MPEC**”) fue el más eficaz en la reepitelización obteniendo para el día 21 un tejido cicatricial estético y uniforme similar a la piel sana de los mismos individuos.

Las principales causas que retrasan el proceso de cicatrización de heridas son las infecciones por patógenos. Los biomodelos permanecieron en una misma caja de bioterio durante los 21 días de experimentación, con las heridas expuestas, sin uso de fármacos antimicrobianos, con riesgo a que las heridas se infectaran. Sin embargo, no se observaron signos de infección en las heridas tratadas (Grupos “**EC**”, “**MP**”, “**MPE**” y “**MPF**”) y estas cumplieron con el proceso de cicatrización de manera ininterrumpida. Con esto se puede inferir que los apósitos a base extractos de *D. ambrosioides* actuaron como antimicrobianos por sus múltiples propiedades antes mencionadas y vistas en este trabajo, sin embargo, el tamaño de las nanofibras también pudo influir en la impermeabilidad de los patógenos a la herida. Se ha demostrado que el nivel nanométrico de este tipo de apósitos sirve para impedir el paso de agentes patógenos como las bacterias por sus tamaños que oscilan entre los nanómetros y micras. Por último, se ha demostrado que el constante intercambio de oxígeno es necesario para la renovación de los vasos sanguíneos y la proliferación celular, además de tener un efecto en la disminución del riesgo de infecciones en las heridas (Liu *et al.*, 2019; Mouro y Gouveia, 2023).

En el análisis histológico se pudo observar que para el día 7 el tejido tratado con membrana dopada de extracto completo de *D. ambrosioides* (Grupo “**MPEC**”) ya se encontraba en la etapa de diferenciación y remodelación ya que contaba con la formación de una epidermis con desprendimiento de estrato corneo, lo cual indica que las capas superficiales ya estaban eliminándose, además la parte lateral de la dermis recién formada ya presentaba primordios de unidades pilosebáceas, en comparación con los demás grupos que se encontraban para este día en fase proliferativa. Para el día 14 en el mismo grupo ya se encontraban diferenciadas las tres capas de la piel, con presencia de unidades pilosebáceas y vasos sanguíneos, lo que indicaba que permanecía en fase de diferenciación. Finalmente, en el día 21

se observó un tejido totalmente ordenado y regenerado que seguía en fase de diferenciación y remodelación. Estos resultados se relacionan con el tratamiento utilizado, el cual fue responsable y ayudó inmediatamente en la formación del tapón plaquetario, deteniendo el sangrado. Los resultados sugieren que promovió la proliferación liberando fibroblastos los que son primordiales en el tejido de granulación donde comienzan a migrar, proliferar y producir los componentes para formar la MEC provisional, incluidos los proteoglicanos, así como el colágeno que es fundamental en la cicatrización de heridas y que compone el tejido en un 50 a 90 % de su totalidad (Qing, 2017). El reclutamiento de células específicas en el área de la lesión es importante para la correcta cicatrización, principalmente dos factores de crecimiento PDGF y TGF- β que inician la quimiotaxis de neutrófilos, macrófagos y fibroblastos, con este reclutamiento inicia de manera correcta la cascada de señales químicas para la curación de heridas (Diller y Tabor, 2022). En las fotografías convencionales, así como en las muestras histológicas se pudo observar cómo las heridas tratadas con membranas dopadas con extractos completos finalizaron de manera más rápida la fase de inflamación, se sabe que los mastocitos liberan gránulos de histamina, heparina, interleucinas (IL-6, IL8) y VEGF que, en conjunto, son responsables de signos característicos de la fase inflamatoria como calor, hinchazón, enrojecimiento y dolor el sitio de la herida (Diller y Tabor, 2022), estas características desaparecieron primero en los grupos “MP” y “MPEC”. También se pudo observar la presencia de vasos sanguíneos a partir del día 14, lo que sugiere que el tejido se encuentra en fase de proliferación y diferenciación para este día, esta característica indica que se sintetizan componentes fundamentales de la nueva MEC empezando a diferenciar las células del tejido, así como las células endoteliales que migran por encima del tejido de granulación cerrando la superficie de la herida, lo cual se pudo demostrar a partir de este día. Por otro lado, la fase de remodelación comenzó entre el día 14 y 21, lo cual indica una aceleración en el proceso de cicatrización comparado con el grupo control y el resto de los tratamientos utilizados como se puede ver en el tejido cicatricial tratado con membranas de PVP y extractos de *D. ambrosioides* el cual mostró formación de unidades pilosebáceas y diferenciación de las tres capas de la piel, la duración de

esta etapa puede deberse en gran medida a la síntesis y degradación del colágeno en la MEC, durante este período la fibronectina se reemplaza por una matriz de colágeno principalmente del tipo I (Velmar *et al.*, 2009; Diller y Tabor, 2022).

Como ya se discutió los apósitos a base de membranas de PVP y extractos completos de *D. ambrosioides* fueron responsables de una mejor cicatrización, en un menor tiempo. Actualmente se sabe que las propiedades medicinales de los extractos de las plantas se atribuyen principalmente a sus metabolitos primarios y secundarios, siendo estos últimos los más relacionados en interferir en procesos celulares fundamentales y vías metabólicas, como la síntesis de colágeno, las propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias que actúan mejorando y acelerando el proceso de curación, esto se debe a la presencia de compuestos bioactivos como fenoles, alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas (Mouro y Gouveia, 2023). Esto se relaciona con un estudio en el que se evaluó y determinó el potencial antioxidante y cicatrizante de extractos vegetales de *Morus alba*, se reveló que el extracto de hoja presentó los mayores valores de compuestos fenólicos en particular de flavonoides, los cuales están relacionados con la actividad antioxidante por actuar como secuestradores de radicales libres e inhibición de oxidasas, estos también intervinieron en la cicatrización porque evitan la liberación de prostaglandinas e histaminas, estabilizando y evitando el daño celular para la regeneración del tejido, en conclusión la presencia de flavonoides contribuyó favorablemente al sistema de procesos bioquímicos involucrados en la inflamación y la cicatrización de las heridas, concluyendo a los 18 días de la lesión (Díaz-Solares *et al.*, 2017).

Por lo anterior se infiere que los polifenoles de origen vegetal se consideran los grupos funcionales que podrían actuar como agentes antiinflamatorios, antioxidantes y antimicrobianos en el proceso de cicatrización de heridas, ya que está documentado que promueven la reepitelización, modulan las citocinas inflamatorias y mejoran las tasas de contracción de las heridas (Mssillou *et al.*, 2022). *D. ambrosioides* ha demostrado poseer una gran capacidad antioxidante y

reductora de radicales libres, lo que se relaciona a sus metabolitos secundarios en particular a compuestos fenólicos (Zohra *et al.*, 2019).

En el presente trabajo se probó y evaluó el efecto cicatrizante de una membrana de PVP electrohilada con compuestos fenólicos de *D. ambrosioides* como principio activo por tener participación antioxidante, se esperaba que este apósito funcionara de la misma manera que el de la membrana cargada con extractos completos de esta planta, sin embargo, el tiempo de cierre para este tratamiento fue mayor en comparación a los demás tratamientos, para el día 21 las heridas de este grupo (Grupo “**MPF**”) aun tenían presencia de costra, se presentaban signos de inflamación presentando coloración rojiza en el área. En las muestras de tejido cicatricial se puede observar que no se redujo el área de la herida, el tejido se encontraba en fase proliferativa, se mantuvo indiferenciado y delgado, en estas muestras tampoco se observaron signos de infección, sin embargo, sí presentó un mayor cierre de herida en comparación con el control.

En este trabajo se pudo demostrar que los tratamientos con extractos completos tienen mejores beneficios que solo las partes fenólicas en el proceso de cicatrización de heridas, lo anterior puede relacionarse a que el principio activo cicatrizante no precisamente está relacionado con los compuestos de naturaleza fenólica. Kasali y colaboradores mencionan que de los compuestos presentes en *D. ambrosioides* la mayoría son terpenos e isoprenoides, los cuales dan sabor y aroma a las plantas, en segundo lugar, se encuentran los compuestos fenólicos específicamente los flavonoides glucósidos (Kasali *et al.*, 2021). Diferentes autores han señalado que el principal compuesto activo de esta planta es ascaridol el cual pertenece a la familia de los monoterpenos, y está presente en extractos y aceites esenciales de *D. ambrosioides* hasta en un 70%, este compuesto está relacionado con varias de sus propiedades principalmente antihelmíntica y antiprotozoaria (Gómez-Castellanos, 2008; Trivellato-Grassi *et al.*, 2013). El presente trabajo abre la posibilidad de buscar a los demás metabolitos secundarios, terpenos principalmente y alcaloides como compuestos con actividad y efecto cicatrizante.

Las heridas tratadas cumplieron con un proceso de cicatrización de manera ininterrumpida, secuencial y organizada, sin crecimiento o proliferación de agentes externos a la herida, lo cual indica que permanecieron como heridas agudas, sin embargo, los organismos utilizados tenían buena salud, un peso ideal para su edad, lo cual se puede relacionar con una actividad inmune eficiente.

Los excelentes resultados presentados en este trabajo extienden la posibilidad de usar los apósitos de PVP con extractos de *D. ambrosioides* como tratamiento de heridas crónicas, por ejemplo, heridas en sujetos donde la reparación del tejido es prolongada sufriendo lesiones a consecuencia de ciertas enfermedades como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, entre otras.

También se propone como tratamiento para lesiones por quemaduras, sin embargo, habrá que investigar a fondo en qué medida es viable este tipo de apósitos y evaluar la capacidad de absorber exudado (factor importante en estas heridas), ya que la remodelación del tejido dañado en este tipo de heridas crónicas no se genera de la misma forma que en una herida aguda.

VIII. CONCLUSIONES

Se pudo demostrar que el uso de membranas de nanofibras electrohiladas dopadas con *Dysphania ambrosioides* como apósito para heridas cutáneas beneficia la cicatrización favoreciendo la proliferación y diferenciación celular, disminuyendo el tiempo de cierre de una herida a partir de los primeros 7 días posteriores a la lesión, sin presencia aparente de infecciones cutáneas.

La morfología de las membranas regula la distribución espacial de los ingredientes funcionales, además de actuar como andamio favoreciendo la adhesión y proliferación promoviendo un tejido cicatricial más organizado.

El tejido cicatricial del grupo tratado con membranas dopadas con extracto completo de *D. ambrosioides* mostró un arreglo ordenado de las células donde en el día 21 se observaron definidas las tres capas de la piel, con presencia de glándulas accesorias, obteniendo un tejido funcional. Adicionalmente la estética de la cicatriz resultante mostró una apariencia similar a la de la piel sana.

Finalmente, se pudo comparar la eficacia de membranas dopadas con extracto completo y membranas con extractos de compuestos fenólicos de *D. ambrosioides* demostrando que los compuestos de naturaleza fenólica no favorecen el proceso de cicatrización en este trabajo.

IX. PERSPECTIVAS

El presente estudio abre la posibilidad de emplear estos apósitos en heridas difíciles de cicatrizar como es el caso de las heridas crónicas, sin embargo, se debe seguir indagando en la combinación de materiales que puedan beneficiar este tipo de lesiones.

También se propone en un futuro seguir estudiando los metabolitos secundarios de *D. ambrosioides* como posibles grupos con actividad y efecto cicatrizante.

X. REFERENCIAS

1. Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., Ishtiaqb, A., Hussain, S. y Suleria, H. A. R. (2016). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1689–1699.
2. Al Jitan, S., Alkhoori, S. A., y Yousef, L. F. (2018). Phenolic Acids From Plants: Extraction and Application to Human Health. *Studies in Natural Products Chemistry*, 389–417.
3. Alonso-Castro, A. J., Maldonado-Miranda, J. J., Zarate-Martinez, A., Jacobo-Salcedo, M. del R., Fernández-Galicia, C., Figueroa-Zuñiga, L. A., Ríos-Reyes, N. A., León-Rubio, L.A., Medellín-Castillo, N. A., Reyes-Munguía, A., Méndez-Martínez, R. y Carranza-Álvarez, C. (2012). Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(1), 292-298.
4. Andrades, P., Sepúlveda, S. y González, J. (2004). Curación Avanzada de Heridas. Departamento de Cirugía, Universidad de Chile. *Revista Chilena de Cirugía*, 56(4), 396-403.
5. Baghersad, S., Hajir Bahrami, S., Mohammadi, M. R., Mojtahedi, M. R. M. y Milan, P. B. (2018). Development of biodegradable electrospun gelatin/aloe-vera/poly(ϵ -caprolactone) hybrid nanofibrous scaffold for application as skin substitutes. *Materials Science and Engineering: C*, 93, 367–379.
6. BioDigital, Inc. (2023). The BioDigital Human (Versión 4.0). [Página web]. Recuperado de: <https://human.biodigital.com/login?returnUrl=/explore>
7. Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N. E., y Eccleston, G. M. (2008). Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8), 2892–2923.
8. Budeguer, C. J., Ponessa, G. I., Arce, O. E. A. y Ruiz, A. I. (2012). Morfología y anatomía foliar de *Dysphania ambrosioides* (Chenopodiaceae) en la provincia de Tucumán. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino*, 32 (1-2), 9-15.

9. Castell Rodríguez, A.E. y Herrera Enríquez, M. (2017). Capítulo 14: Piel y anexos. Fortoul van der Goes, T.I., Histología y biología celular, 3e. McGraw Hill.
10. Chen, Q., Wu, J., Liu, Y., Li, Y., Zhang, C., Qi, W., Yeung, KWK., Wong, TM., Zhao, X. and Pan, H. (2019). Electrospun chitosan/PVA/bioglass Nanofibrous membrane with spatially designed structure for accelerating chronic wound healing. *Materials Science and Engineering*: Vol. 105,110083.
11. Croisier, F., Atanasova, G., Poumay, Y., y Jérôme, C. (2014). Polysaccharide-coated PCL nanofibers for wound dressing applications. *Advanced healthcare materials*, 3(12), 2032–2039.
12. Cruz San Juan, J. H. (2021). Estudio etnofarmacológico del uso de membranas nanoestructuradas de PVP dopadas con extractos de *Hamelia Patens* Jacq. en el tratamiento de heridas cutáneas. [Tesis de licenciatura]. Facultad de ciencias biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
13. Díaz Solares, M., Castro-Cabrera, I., Lugo-Morales, Y., Prieto-Abreu, M., Altunaga-Pérez, N. y López-Vigoa, O. (2017). Potencial antioxidante y cicatrizante de extractos frescos de *Morus alba*. *Pastos y Forrajes*, 40(2), 135-143.
14. Diller, R. B. y Tabor, A. J. (2022). The Role of the Extracellular Matrix (ECM) in Wound Healing: A Review. *Biomimetics* (Basel, Switzerland), 7(3), 87.
15. Dong, Y., Zheng, Y., Zhang, K., Yao, Y., Wang, L., Li, X., Yu, J. y Ding, B. (2020). Electrospun Nanofibrous Materials for Wound Healing. *Advanced Fiber Materials*, 2, 212–227.
16. Ferreira, T. y Rasband, W. ImageJ User Guide. IJ146r, 2012. Recuperado de sitio web: <http://imagej.nih.gov/ij/docs/guide>.
17. Figueroa Merma, A. A. (2021). Capacidad antioxidante y compuestos bioactivos: ácidos grasos, polifenoles, terpenos y tocoferoles en hojas de paico [*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants]. [Tesis de Pregrado]. Facultad de industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima Perú.

18. Gómez Catellanos, J. R. (2008). Epazote (*Chenopodium ambrosioides*). Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica, y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 7 (1), 3-9.
19. Greaves, N. S., Ashcroft, K. J., Baguneid, M. y Bayat, A. (2013). Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *Journal of dermatological science*, 72(3), 206–217.
20. Guarín-Corredor, C., Quiroga-Santamaría, P y Landínez-Parra, N.S. (2013). Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. *Revista Facultad Medicina*, 61(4), 441-448.
21. Guzmán R. (2019). *Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento*, 7e. McGraw Hill.
22. Jiménez, E. (2008). Curación avanzada de heridas. *Revista Colombia*, 23(3),146-155.
23. Johnstone, C. C., Farley, A. y Hendry, C. (2005). The physiological basics of wound healing. *Nursing Standard*, 19(43), 59–65
24. Kaltalioglu, K. y Coskun, S. (2015). A bioactive molecule in a complex wound healing process: platelet-derived growth factor. *International journal of dermatology*, 54(8), 972–977.
25. Kasali, F. M., Tusiimire, J., Kadima, J. N. y Agaba, A. G. (2021). Ethnomedical uses, chemical constituents, and evidence-based pharmacological properties of *Chenopodium ambrosioides* L. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7, 153.
26. Khavkin, J., & Ellis, D. A. (2011). Aging skin: histology, physiology, and pathology. *Facial plastic surgery clinics of North America*, 19(2), 229–234.
27. Lee, S. Y., Jeon, S., Kwon, Y. W., Kwon, M., Kang, M. S., Seong, K. Y., Park, T. E., Yang, S. Y., Han, D. W., Hong, S. W., y Kim, K. S. (2022). Combinatorial wound healing therapy using adhesive nanofibrous membrane equipped with wearable LED patches for photobiomodulation. *Science advances*, 8(15), 1646.

28. Li, W., Wang, J., Cheng, Z., Yang, G., Zhao, C., Gao, F., Zhangd, Z. y Qiand, Y. (2022). Sandwich structure Aloin-PVP/Aloin-PVP-PLA/PLA as a wound dressing to accelerate wound healing. *Royal Society of Chemistry Adv.* 12, 27300–27308.
29. Liakos, I., Rizzello, L., Hajiali, H., Brunetti, V., Carzino, R., Pompa, P. P., Athanassiou, A. y Mele, E. (2015). Fibrous wound dressings encapsulating essential oils as natural antimicrobial agents. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(8), 1583–1589.
30. Liu, X., Xu, H., Zhang, M. y Yu, D. G. (2021). Electrospun Medicated Nanofibers for Wound Healing: Review. *Membranes*, 11(10), 770.
31. Liu, Y., Zhou, S., Gao, Y. y Zhai, Y. (2019). Electrospun nanofibers as a wound dressing for treating diabetic foot ulcer. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 14(2), 130–143.
32. Lucena, S., Arocha Piñango, C.L. y Guerrero, B. (2007). Fibronectina: Estructura y funciones asociadas a la hemostasia. *Investigación Clínica*, 48(2), 249-262.
33. Mahmoudi, N., Eslahi, N., Mehdipour, A., Mohammadi, M., Akbari, M., Samadikuchaksaraei, A., y Simchi, A. (2017). Temporary skin grafts based on hybrid graphene oxide-natural biopolymer nanofibers as effective wound healing substitutes: pre-clinical and pathological studies in animal models. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 28(5), 73.
34. Marques, M. P., Mendonça, L., Neves, B. G., Varela, C., Oliveira, P. y Cabral, C. (2023). Exploring Iberian Peninsula Lamiaceae as potential therapeutic approaches in wound healing. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16(3), 347.
35. Martínez-Correa, E., Osorio-Delgado, M. A., Henao-Tamayo, L. J., y Castro-Herazo, C. I. (2020). Clasificación Sistemática de Apósitos: Una Revisión Bibliográfica. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 41(1), 5-28.
36. Megías, M., Molist, P. y Pombal, MA. (2022). Atlas de histología vegetal y animal. La piel. Recuperado de: <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>.

37. Min, B.-M., Lee, G., Kim, S. H., Nam, Y. S., Lee, T. S., y Park, W. H. (2004). Electrospinning of silk fibroin nanofibers and its effect on the adhesion and spreading of normal human keratinocytes and fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 25(7-8), 1289–1297.
38. Molino, H., Gonzales, M., Alcalde-Yañez, A., Valverde-Morón, V., y Villanueva-Salvatierra, D. (2020). Electrospinning: Avances y aplicaciones en el campo de la biomedicina. *Revista Facultad de Medicina Humana*, 20(4), 706-713.
39. Mosyakin, S. L. y Clemants, S. E. (2002). New nomenclatural combinations in *Dysphania* R.Br. (Chenopodiaceae): Taxa occurring in North America. *Ukrainian Botanical Journal* 59(4), 380-385.
40. Motealleh, B., Zahedi, P., Rezaeian, I., Moghimi, M., Abdolghaffari, A. H. y Zarandi, M. A. (2014). Morphology, drug release, antibacterial, cell proliferation, and histology studies of chamomile-loaded wound dressing mats based on electrospun nanofibrous poly(ϵ -caprolactone)/polystyrene blends. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 102(5), 977–987.
41. Mouro, C. y Gouveia, I. C. (2023). Electrospun wound dressings with antibacterial function: a critical review of plant extract and essential oil incorporation, *Critical Reviews in Biotechnology*
42. Mssillou, I., Bakour, M., Slighoua, M., Laaroussi, H., Saghrouchni, H., Ez-Zahra Amrati, F., Lyoussi, B. y Derwich, E. (2022). Investigation on wound healing effect of Mediterranean medicinal plants and some related phenolic compounds: A review. *Journal of ethnopharmacology*, 298, 115663.
43. Olczyk, P., Mencner, L. y Komosinska-Vassev, K. (2014). The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. *BioMed research international*, 747584.
44. Pinheiro Neto, V. F., Ribeiro, R. M., Moraes, C. S., Campos, M. B., Vieira, D. A., Guerra, P. C., Abreu-Silva, A. L., Silva Junior, J. R., Nascimento, F. R. F., Borges, M. O. R. y Borges, A. C. R. (2017). *Chenopodium ambrosioides* as a

- bone graft substitute in rabbits radius fracture. BMC complementary and alternative medicine, 17(1), 350.
45. Qing C. (2017). The molecular biology in wound healing & non-healing wound. Chinese journal of traumatology Zhonghua chuang shang za zhi, 20(4), 189–193.
46. Saladin. K. S. (2012). Anatomía y fisiología: La unidad entre forma y función. 6ta Ed. McGRAW-HILL Interamericana.
47. Sánchez, J., Faure, R., Martínez, G., Vega, E. y Fernández, O. (2009). Propiedades antioxidantes de *Rhizophora mangle* (L.) y su relación con el proceso de curación de heridas en ratas. Revista de Salud Animal, 31(3), 170-175.
48. Sarkar, R., Ghosh, A., Barui, A., y Datta, P. (2018). Repositing honey incorporated electrospun nanofiber membranes to provide anti-oxidant, anti-bacterial and anti-inflammatory microenvironment for wound regeneration. Journal of materials science. Materials in medicine, 29(3), 31.
49. Sriyanti, I., Edikresnha, D., Rahma, A., Munir, M. M., Rachmawati, H. y Khairurrijal, K. (2017). Correlation between Structures and Antioxidant Activities of Polyvinylpyrrolidone/Garcinia mangostana L. Extract Composite Nanofiber Mats Prepared Using Electrospinning. Journal of Nanomaterials, 2017, 1–10.
50. Suganya, S., Senthil Ram, T., Lakshmi, B. S. y Giridev, V. R. (2011). Herbal drug incorporated antibacterial nanofibrous mat fabricated by electrospinning: An excellent matrix for wound dressings. Journal of Applied Polymer Science, 121(5), 2893–2899.
51. Sun, Y., Cheng, S., Lu, W., Wang, Y., Zhang, P., y Yao, Q. (2019). Electrospun fibers and their application in drug controlled release, biological dressings, tissue repair, and enzyme immobilization. RSC advances, 9(44), 25712–25729.
52. Tchani, G., Agbeme, K., Agbodan, K., Baba, G. y Kpegba, K. (2021). Phytochemical Study and Comparative Antioxidant Activity of Extracts from

- Aerial Parts of *Chenopodium ambrosioides* Linn. (Chenopodiaceae). *Advances in Biological Chemistry*, 11, 220-233.
53. Tottoli, E.M., Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S. y Conti, B. (2020). Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration *Pharmaceutics*,12(8):735.
54. Trivellato-Grassi, L., Malheiros, A., Meyre-Silva, C., Buss, Z.daS., Monguilhott, E. D., Fröde, T. S., da Silva, K. A., y de Souza, M. M. (2013). From popular use to pharmacological validation: a study of the antiinflammatory, anti-nociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract. *Journal of ethnopharmacology*, 145(1), 127–138.
55. Valencia-Gómez, L.E., Martel-Estrada, S.A., Vargas-Requena, C.L., Rodríguez-González, C.A., y Olivas-Armendáriz, I. (2016). Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 37(3), 235-249.
56. Vela, G., Stegensek, E. M. y Leija, C. (2018). Características epidemiológicas y costos de la atención de las heridas en unidades médicas de la Secretaría de Salud. *Revista Enfermería IMSS*, 26(2), 105-114.
57. Velnar, T., Bailey, T., y Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of international medical research*, 37(5), 1528–1542.
58. Weiser, T. G., Haynes, A. B., Molina, G., Lipsitz, S. R., Esquivel, M. M., Uribe-Leitz, T., Fu, R., Azad, T., Chao, T. E., Berry, W. R. y Gawande, A. A. (2016). Size and distribution of the global volume of surgery in 2012. *Bulletin of the World Health Organization*, 94(3), 201–209.
59. Yazarlu, O., Iranshahi, M., Kashani, H. R. K., Reshadat, S., Habtemariam, S., Iranshahy, M., y Hasanpour, M. (2021). Perspective on the application of medicinal plants and natural products in wound healing: A mechanistic review. *Pharmacological research*, 174, 105841.
60. Zárate-Martínez, W., González-Morales, S., Ramírez-Godina, F., Robledo-Olivo, A., & Juárez-Maldonado, A. (2021). Effect of phenolic acids on the

- antioxidant system of tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agronomía Mesoamericana*, 32(3), 854–868.
61. Zhang, W., Ronca, S. y Mele, E. (2017). Electrospun Nanofibres Containing Antimicrobial Plant Extracts. *Nanomaterials*, 7(2),42.
 62. Zohra, T., Ovais, M., Khalil, A. T., Qasim, M., Ayaz, M. y Shinwari, Z. K. (2019). Extraction optimization, total phenolic, flavonoid contents, HPLC-DAD analysis and diverse pharmacological evaluations of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. *Natural Product Research*, 33(1), 136–142.

XI. PARTICIPACIONES

Presentación en modalidad cartel del trabajo titulado “USO DE NANOFIBRAS ELECTROHILADAS DOPADAS CON EXTRACTOS DE DYSPHANIA AMBROSIOIDES PARA LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS” en el XIII Congreso Nacional y III Internacional de Tecnología Aplicada a Ciencias de la Salud 2023, el cual se llevó a cabo los días 15,16 y 17 de junio del 2023, en la Ciudad de México.



El Comité Organizador del XIII Congreso Nacional y III Internacional
de Tecnología Aplicada a Ciencias de la Salud
otorga la presente

CONSTANCIA

a:

Marilyn Ortiz Cuatpotzo, Jonathan Hillel Cruz San Juan, Juan Pablo Padilla Martínez,
Anabella Handal Silva, Aitza Flores Abarca, Alejandra Silva Escamilla,
Karla Fernanda Martínez Hernández, Francisco Ramos Collazo,
José Luis Morán Perales, Wendy Argelia García Suastegui

por su valiosa participación con la presentación del cartel intitulado
“USO DE NANOFIBRAS ELECTROHILADAS DOPADAS CON EXTRACTOS DE DYSPHANIA
AMBROSIOIDES PARA LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS”

Ciudad de México, 15, 16 y 17 de junio de 2023

Dr. Alejandro Alayola Sansores
Presidente del Comité Organizador Local,
FACMED-UNAM

Eduardo Tepichin
Dr. Eduardo Tepichin Rodríguez
Presidente del Comité Organizador Nacional,
INAOE



BUAP

Registro:
BUAP-VIEP/HCP23/12-25/23
Folios: 4690

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado

otorga la presente

CONSTANCIA

A: Marilyn Ortiz Cuatepotzo

Por su valiosa participación, con el proyecto de investigación: "Análisis histológico del tejido cicatricial de heridas tratadas con extractos vegetales", bajo la asesoría de la Dra. Wendy Argelia García Suastegui, en el programa "Haciendo Ciencia en la BUAP primavera 2023", mismo que se llevó a cabo del 21 de marzo al 23 de junio del presente año, como parte de las acciones del Plan de Desarrollo Institucional 2021 - 2025.

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a 26 de junio de 2023

Dr. Arturo Fernández Téllez

Director General de Divulgación Científica



Participación en el programa "HACIENDO CIENCIA EN LA BUAP PRIMAVERA 2023" con el proyecto de investigación "ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL TEJIDO CICATRICAL DE HERIDAS TRATADAS CON EXTRACTOS VEGETALES" el cual se llevó a cabo del 21 de marzo al 23 de junio del 2023 en el Instituto de Ciencias, BUAP.