BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

Título de la Tesis
"Análisis Histomorfológico del efecto pro cicatrizante de extractos acuosos de *Ipomoea pauciflora* en heridas por segunda intención en ratas cepa Wistar"

Para obtener el Titulo
Médico Cirujano y Partero

Presenta el alumno
Aldo Ulises Mundo Bastida

Director Experto:
D.C. Maura Cárdenas García

Director Metodológico:
D.C. María Guadalupe Hernández Linares

Puebla, Puebla noviembre 2020

Índice de contenido.

Resumen	8
Introducción	10
Antecedentes.	11
Antecedentes Generales.	11
Antecedentes Específicos.	36
Planteamiento del problema.	41
Objetivos.	42
Objetivos generales.	42
Objetivos específicos.	42
Materiales y métodos.	43
Diseño del estudio.	43
Ubicación espacio- temporal.	43
Estrategia de trabajo.	43
Muestreo.	43
Definición de población.	43
Selección de la muestra.	43
Criterio de selección de muestra.	43
Criterios de inclusión.	44
Criterios de exclusión.	44
Criterios de eliminación.	44
Diseño y tipo de muestreo.	44
Tamaño de la muestra.	44
Definiciones de las variables.	44
Método de recolección de datos.	45
Técnicas y procedimientos.	45
Análisis estadístico.	48
Diseño estadístico.	48
Resultados.	49

Análisis estadístico de resultados.	64
Discusión.	78
Conclusión.	80
Consideraciones a futuro.	82
Bibliografía.	84
Anexos.	95

Índice de figuras.

Figura 1. Elementos representativos de la medicina tradicional.	12
Figura 2. Representación ilustrativa de drogas secas comúnmente empleadas en la herbolaria.	13
Figura 3. Ilustración del códice De la Cruz Badiano en el que se describen los usos de algunas plantas medicinales empleadas por la cultura mexica durante el virreinato.	14
Figura 4. Imágenes representativas de *Ipomoea pauciflora*.	14
Figura 5. Esquema de las caracteristicas de *Ipomoea pauciflora*.	16
Figura 6. Esquema representativo de la piel en un corte transversal y las 3 capas que la conforman, así como los anexos cutáneos.	22
Figura 7. Esquema ilustrativo del proceso de cicatrización.	25
Figura 8. Esquema representativo de las fases de cicatrización.	26
Figura 9. Representación esquemática de la hemostasia y respuesta inflamatoria.	28
Figura 10. Representación esquemática de la fase inflamatoria con la estimulación quimiotáctica de neutrófilos y monocitos.	29
Figura 11. Representación esquemática de la fase proliferativa.	30
Figura 12. Representación de la quimiotaxis del queratinocito y su desplazamiento por la matriz.	31
Figura 13. Imagen representativa de la contracción de la herida por acción de los fibroblastos a través de la malla formada por colágeno.	32
Figura 14. Esquema representativo de la maduración y remodelación del tejido.	33
Figura 15. Representación esquemática de los tipos de cicatrización por tipo de intención.	34
Figura 16 Se muestra la gráfica lineal donde se muestra la curva obtenida de las heridas y cotejada con la herida de la rata control, de forma cronológica.	39
F**igura 17**. Imagen representativa de los cortes realizados en los troncos de los árboles para la extracción de la corteza.	46
Figura 18. Representación del equipo para extracción por microondas así como su programación.	47
Figura 19. Secuenciación de la toma de biopsia.	48
Figura 20. Heridas realizadas el día de la biopsia.	49
Figura 21. Heridas a los 3 días de la biopsia.	50
Figura 22. Heridas a los 5 días de la biopsia.	51
Figura 23. Heridas a los 8 días de la biopsia.	52
Figura 24. Heridas a los 12 días de la biopsia.	53
Figura 25. Heridas a los 15 días de la biopsia.	54
Figura 26. Corte histológico del tejido original previo a la biopsia.	55

Figura 27. Corte histológico del tejido del grupo 1 control negativo a los 3 días.	55
Figura 28. Corte histológico del tejido del grupo 2 control negativo a los 8 días.	56
Figura 29. Corte histológico del tejido del grupo 3 control negativo a los 15 días.	56
Figura 30. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 3 días.	57
Figura 31. Corte histológico del tejido grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 3 días.	57
Figura 32. Corte histológico del tejido grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 8 días.	58
Figura 33. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 8 días.	58
Figura 34. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los15 días.	59
Figura 35. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los15 días.	59
Figura 36. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 3 días.	60
Figura 37. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 3 días.	60
Figura 38. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 8 días.	61
Figura 39. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 8 días.	61
Figura 40. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 15 días.	62
Figura 41. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 15 días.	62
Figura 42. Comportamiento de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 3 posterior a la toma de muestra histológica.	64
Figura 43. Comportamiento de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 8 posterior a la toma de muestra histológica.	65
Figura 44. Comportamiento de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 15 posterior a la toma de muestra histológica.	66
Figura 45. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 3 posterior a la toma de muestra histológica.	66
Figura 46. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 8 posterior a la toma de muestra histológica.	69
Figura 47. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 12 posterior a la toma de muestra histológica.	71
Figura 48. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 15 posterior a la toma de muestra histológica.	73

Figura 49. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0, 3, 8. 12 y 15 posteriores a la toma de muestra histológica.	76
Figura 50. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales desde el día 0 al día 15 posteriores a la toma de muestra histológica.	77
Figura 51. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 3, posterior a la toma de muestra histológica por grupo.	99
Figura 52. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 8, posterior a la toma de muestra histológica por grupo.	101
Figura 53. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 15, posterior a la toma de muestra histológica por grupo.	103

Índice de tablas

Tabla 1. Criterios de seleción de muestra.	**44**
Tabla 2. Distribución de los modelos experimentales.	**44**
Tabla.3. Definición de las variables y escalas de medición	**44**
Tabla 4. Características de las 15 laminillas seleccionadas al azar para su análisis.	**63**
Tabla 5. Prueba de ANOVA un factor del día 3.	**67**
Tabla 6. Prueba Post Hoc del día 3.	**68**
Tabla 7. Prueba de ANOVA un factor del día 8.	**70**
Tabla 8. Prueba Post Hoc del día 8.	**71**
Tabla 9. Prueba de ANOVA un factor del día 12.	**72**
Tabla 10. Prueba Post Hoc del día 12.	**73**
Tabla 11. Prueba de ANOVA un factor del día 15.	**74**
Tabla 12. Prueba Post Hoc del día 15.	**75**
Tabla 13. Prueba Post Hoc del día 15**.**	**75**
Tabla 14. Rangos de absorción UV de las familias de metabolitos secundarios para *I. murucoides.*	**97**
Tabla 15. Áreas de las heridas por día en mm^2 por rata en grupos experimentales	**98**
Tabla 16. Prueba de T pareada para muestras relacionadas comparando el día 0 con el día 3 por grupo experimental.	**100**
Tabla 17. Prueba de T pareada para muestras relacionadas comparando el día 0 con el día 8 por grupo experimental**.**	**102**
Tabla 18. Prueba de T pareada para muestras relacionadas comparando el día 0 con el día 15 por grupo experimental**.**	**1045**

Glosario

LPA ácido lisofosfatídico.

UV: ultravioleta.

EVGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

ADP: adenosín di fosfato.

PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas.

EGF: factor de crecimiento epidérmico.

TGF B1: factor de crecimiento transformante B1.

GM- CSF: factor estimulante de colonia granulocitos y monocitos.

INF: interferón.

Ang 1, 2: angiopoyetina 1,2.

SPARC: proteína secretada acida y rica en cisteína.

IL-1: interleucina 1.

TNF a: factor de necrosis tumoral alfa.

IGF I y II: factor de crecimiento similar a la insulina 1 y 2.

AINES: antiinflamatorios no esteroideos.

MAC: moléculas de adhesión celular.

VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular 1.

IL-6: interleucina 6.

CZH: cazahuate.

MEC: matriz extracelular.

AGE: productos finales de la glicación avanzada.

RAGE: receptores de AGE.

HIF: factor inducible por hipoxia.

1. Resumen

En la actualidad se emplean diversos productos naturales en la medicina tradicional herbolaria para satisfacer las necesidades de salud, se sabe que *Ipomoea pauciflora* comúnmente conocido como Cazahuate fue empleado en las culturas mesoamericanas para tratar diferentes afecciones desde dermatológicas hasta antirreumáticas, en esta investigación se emplearon ratas machos de la cepa Wistar, al ser un modelo que presenta gran similitud al sistema tegumentario con el humano además de mas fácil acceso y reproductibilidad, esto con la finalidad de evaluar el efecto procicatrizante de extractos acuosos de *Ipomoea pauciflora* en un cierre por segunda intención en un periodo de 15 días comparados con dos grupos control; la población total fue de 54 ratas machos de la cepa Wistar que se dividieron en 9 grupos experimentales a los cuales se les realizó un corte excisional en el dorso de las ratas y se les aplicó 25 µL de solución estéril para el grupo control negativo, 25 µL del producto comercial Dermatix para el control positivo y 25 µL de extracto acuoso de cazahuate que equivale a 0.25mg de materia orgánica, y se les realizó toma de biopsia del tejido cicatrizal al los 3, 8 y 15 días para analizar histomorfologicamente la respuesta inflamatoria y la evaluación de las fibras de colágeno formadas durante el proceso de cicatrización. Los resultados obtenidos demostraron que el uso de extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* favoreció el proceso de cicatrización, reduciendo los tiempos en la fase inflamatoria y benefició el proceso de proliferación y de maduración celular, disminuyendo y acelerando la respuesta inflamatoria desde los primeros días, también propició la proliferación de fibroblastos y su cambio fenotípico a miofibroblasto, por lo que se observó en una disminución del tamaño de la herida en el día 6 y 8 en comparación con los grupos control, al término de los 15 días la lesión final presentó una mayor homogeneidad con el tejido circulante a la lesión, con un aspecto más estético, en comparación con ambos controles, también se pudo ver una mejora significativa en la remodelación y maduración del tejido en comparación con ambos controles, así como una disposición de fibras de colágeno más organizadas, presentando anexos cutáneos, demostrado a partir del análisis histomorfológico.

La aplicación del extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* presentó acción procicatrizante al disminuir la respuesta inflamatoria local y estimuló la generación de

un tejido con características con mayor similitud al tejido original comparado con el formado con el transcurso natural sin intervención o empleando gel de silicona.

2. Introducción

En la actualidad se han empleado diversas estrategias terapéuticas para la reepitelización o aumento de la fuerza tensil de las heridas, en administración tópica, por ejemplo; fármacos como el ácido lisofosfatídico (LPA), así como derivados de plata para el tratamiento de quemaduras en piel por su efecto antimicrobiano no obstante se observa retraso e inhibición en la reepitelización de las heridas *in vitro* e *in vivo* retrasando el proceso de cicatrización por su citotoxicidad, otro enfoque se ha centrado en la regulación del proceso inflamatorio y sus efectos inhibiendo TNF-α, también se han usado análogos de piel mostrando cierta efectividad en el tratamiento de heridas neuropáticas crónicas, se ha encontrado disminución significativa del tiempo de curación, por medio de biorreactores locales que nutren las células de la herida con factores de crecimiento y proteínas de MEC previniendo o mejorando la replicación deficiente y la proliferación en la herida (1,2), estas mismas acciones han sido estudiadas como efecto de metabolitos secundarios de compuestos orgánicos encontrados en las plantas, por lo que se ha planteado el uso de extractos acuosos de *Ipomoea pauciflora* que ha sido usado tradicionalmente por las culturas mesoamericanas para afecciones dermatológicas y como antiveneno de animales ponzoñosos, sin embargo sus efectos no se han estudiado en el ámbito científico (3,4). Se estudió el efecto de extractos acuosos de la corteza de *Ipomoea pauciflora*, como pro-cicatrizante en heridas con cierre por segunda intención encontrándose de acuerdo a estudio histomorfológico, que actúan en la fase inflamatoria, proliferativa y en la remodelación y maduración del tejido en el proceso de cicatrización con mejor sanación en estas fases comparadas con control negativo (cierre natural) y el control positivo (Dermatix®, producto comercial a base de gel de silicona).

Comentado [MCG1]: Insertar referencia

Comentado [MCG2]: Insertar referencia

3. Antecedentes

Comentado [MCG3]: Enumerar todos los epígrafes

3.1 Antecedentes generales

La medicina tradicional

El uso de la medicina tradicional busca aumentar el conocimiento terapéutico del médico, y a su vez inculcar el uso de la vieja y actual dialéctica y terapéutica, tanto oriental como occidental, para enriquecer su competencia diagnóstica y terapéutica en la práctica diaria esto con el fin de evitar daños ocasionados por iatrogenias, por la falta de conocimiento y/o consecuencia del mal empleo por parte de la comunidad o inclusive por interacciones medicamentosas, que pudieran presentarse con el afán de buscar una cura al padecimiento (5). Actualmente la medicina tradicional es admitida como un elemento esencial para la salud de millones de personas, siendo así parte esencial del patrimonio de las culturas como acervo de información, recursos y prácticas para el desarrollo del bienestar e identidad de numerosos pueblos (6).

A su vez, la medicina tradicional mexicana (figura 1) ha cambiado a lo largo del tiempo, interactuando con modelos terapéuticos para conformar el actual “sistema real de salud” de millones de mexicanos, sin importar estrato social o zona geográfica, destacando su fuerte asociación al uso de plantas medicinales por ser un recurso accesible y conocido, siendo esta, en algunas ocasiones, la única opción de tratamiento para las poblaciones indígenas, ya sea por su extrema pobreza, difícil acceso a la comunidad de medicamentos patentados o bien por las deficiencias en el sector salud (6,7).

Figura 2**.** Elementos representativos de la medicina tradicional (8,9)**.**

Las plantas medicinales

En general, las plantas medicinales desempeñan un papel importante en el cuidado de la salud de los seres humanos, desde el inicio de la humanidad, hasta el desarrollo de la medicina actual, el hombre ha dependido de ellas para el tratamiento de sus enfermedades, acumulando un vasto acervo de conocimientos sobre su uso (6,10).

En la mayoría de países en vías de desarrollo, de acuerdo a la OMS el 80% de la población, usa la medicina tradicional herbolaria para satisfacer sus necesidades de salud (figura 2); en países como China, Cuba y Tailandia se ha introducido oficialmente el uso de esta medicina en sus programas de salud, aunado a que en las últimas décadas, en el occidente han tenido mayor relevancia productos de origen natural, como las drogas secas y los extractos favoreciendo así el regreso a lo natural; el descubrimiento de efectos adversos, la comprensión y mayor entendimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales, para el desarrollo de métodos analíticos con el fin de mejorar el control de calidad e impulsar nuevas formas de preparación y administración de los fitoterapéuticos, siendo definidos como el uso de material vegetal con propiedades medicinales para finalidad terapéutica (11), esto con el propósito de hacer científico el conocimiento tradicional empírico, de los hábitos y costumbres de terapias comprobadas, así como de los preparados, remedios, infusiones, suplementos nutricionales y otros productos fitoterapéuticos (10,12).

Figura 2. Representación ilustrativa de drogas secas comúnmente empleadas en la herbolaria. (13)

Por su parte la industria farmacológica y alimenticia muestran interés en los productos naturales debido a las propiedades antioxidantes y antimicrobianas que estos presentan, un ejemplo es el propóleo el cual presenta actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antifúngica, antioxidante e inmunoestimulante; dentro de sus compuestos más abundantes y más estudiados se encuentran los compuestos fenólicos como los flavonoides pinocembrina, galangina y crisina; los aldehídos, el éster fenetílico, los ácidos fenólicos, caféico, ferúlico y cinámico, los cuales se han estudiado, principalmente, en trastornos neurológicos, enfermedades cardiovasculares, fisiopatología del cáncer y diabetes, inclusive se ha analizado su efecto en la lesión por isquemia–reperfusión ovárica (14).

Una de las limitantes para realizar los perfiles de compuestos bioactivos es la caracterización de la composición química, ya que esta varía dependiendo de la época del año en que se colecte la muestra, por lo que inclusive las muestras recolectadas en la misma zona geográfica, pero diferente momento muestran distintas composiciones químicas y perfiles fitoquímicos activos (15).

De las plantas medicinales descritas en el códice Badiano (14, 15), se registra que los aztecas utilizaron el cazahuate para uso medicinal y estético, lo empleaban para tratar desde dolor abdominal hasta picaduras de animales ponzoñosos o mordeduras de serpientes, también lo empleaban para estimular el crecimiento y fortalecimiento del cabello (16,17). En la figura 3 se observan ilustraciones del códice Badiano de plantas medicinales.

Figura 3. Ilustración del códice De la Cruz Badiano en el que se describen los usos de algunas plantas medicinales empleadas por la cultura mexica durante el virreinato (18,19).

El Cazahuate

El árbol de *Ipomoea pauciflora* comúnmente conocido como cazahuate (figura 4) pertenece al género *Ipomoea*, especie y subespecie *pauciflora* pertenecientes a la familia *Convolvulacea,* del orden *Solanales*, superorden *Asteranae*, subclase *Magnoliidae* y de clase *Equisetopsida* (20).

Figura 4. Imágenes representativas de *Ipomoea pauciflora*.

En 2013 Dorado – Ruiz *et al*., describieron que *Ipomoea pauciflora* cuyo origen aún desconocido, es una especie distribuida en todo el país sobre todo en la región de Morelos, Guerrero y Oaxaca, entre otros estados con selva baja caducifolia, sin embargo ha sido poco investigada en el ámbito de la medicina tradicional (21,22), habita en climas cálido y semicálido, entre 400 a 2000 metros sobre el nivel del mar (msnm), frecuentemente se le asocia a vegetación perturbada, derivada de bosque

tropical caducifolio y matorral xerófilo, es descrita como una planta arbóreo-arbustiva de 3 a 8 m de altura, con flores de color blanco, y sus semillas están cubiertas por suave pubescencia blanca (4,21,23–25).

En el estado de Morelos existen tres especies arbóreas de *Ipomoea: Ipomoea arborescens, Ipomoea murucoides e Ipomoea pauciflora*. Las dos primeras conocidas como "cazahuates amarillos" diferenciándose de la última por su abundante pubescencia, especialmente en hojas, pedúnculo y cáliz, y por su corteza amarillenta, menos marcada en *Ipomoea arborescens*, siendo *Ipomoea pauciflora* glabra y de corteza blanquecina por lo que es comúnmente denominado como "cazahuate blanco" (figura 5), sus flores están agrupadas en largas y curvas inflorescencias de hasta 1.5m de largo con numerosas flores, opuesto a que en *Ipomoea arborescens* e *Ipomoea murucoides;* las inflorescencias se encuentran, principalmente, en las puntas de las ramas y cuentan de 2-4 flores, es un arbusto que mide 8 metros de altura y en el tronco presenta un grosor de hasta 40 cm, muy ramificado, con corteza grisácea y lisa. Los tallos son glabros, con látex blanco y cicatrices foliares, las hojas son simples de 4.4 – 11 cm de longitud por 2.2 – 6.8 cm de ancho, glabras, de tipo cordiformes a ovadas, base cordada, margen entero y ápice acuminado, presenta inflorescencias de hasta 1.5 m de largo; pedúnculos de 1.5 – 4.6 mm de largo y 0.9 – 1.6 mm de grosor, glabros, verdosos; pedicelos glabros, verdosos; cáliz con sépalos sub-iguales, ovados, glabros, ápice de agudo a redondeado. Flores de 5.6 – 8.2 cm de largo, 1.4–3.1 cm de ancho, corolas blancas, interior púrpura en la base, infundibuliforme, interpliegues glabros y verdosos, con tricomas blancos en base; estambres de 1–1.6 cm de largo, filamentos blancos, aunados a la corola, estilo y estigma blancos, frutos globosos, color pardo claro. Semillas, con pelos color blanco en los márgenes laterales. Hábitat: selva baja caducifolia, en un gradiente altitudinal de 910-1620 msnm. Fenología: florece de octubre a marzo, extendiéndose hasta el mes de abril y fructifica de febrero a abril (16,24,26).

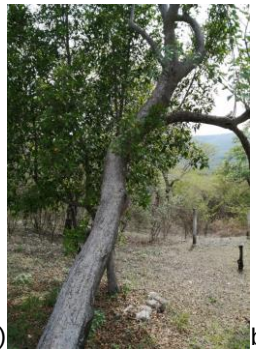
a)  b) c)

Figura 5. En la imagen a) se puede observar la corteza blanquecina, y hojas simples y glabras, b) se aprecia la inflorescencia larga y abundante en comparación con las otras dos especies de cazahuate (27), c) se observan las características de las flores previamente descritas (26,27).

Usos etnobotánicos

Se han realizado diversas investigaciones etnofarmacológicas del cazahuate, como la modulación de la actividad antibiótica, la inhibición de bombas de flujo bacteriano de diversos fármacos con la adición de la resina de cazahuate y la modificación de la resistencia bacteriana ante tetrasacáridos por mencionar algunos (28–30), la etnofarmacología fue definida en 1983 por Holmstedt y Brunh como "*La exploración interdisciplinaria de los agentes biológicamente activos tradicionalmente empleados por el hombre*"; en 1991 Schultes la define como: "*La observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de los fármacos utilizados en la medicina tradicional"*, por lo tanto la etnofarmacología se define como una ciencia interdisciplinaria que comprende las observaciones de campo, la descripción del uso y elaboración de los remedios, la determinación botánica del material, los estudios fitoquímicos incluyendo el aislamiento de los compuestos presentes en las plantas (31,32); estudios farmacológicos han demostrado una gran cantidad de plantas empleadas para tratar las afecciones de diversas poblaciones por su función antitumoral, antiséptico, analgésico, antiinflamatorio, antibiótico, entre otros (32).

Dentro de las moléculas bioactivas se encuentran los metabolitos primarios y secundarios; de los primarios se encuentran los lípidos, ácidos nucleicos y proteínas los cuales se destacan por su alto valor, la complejidad de sus estructuras químicas y

sus vías biosintéticas, de los principales metabolitos secundarios aislados en diferentes partes de las plantas se encuentran los flavonoides, triterpenos, catequinas, lignanos, taninos, cumarinas y esteroides (14,33,34).

Experimentación con compuestos orgánicos

Las moléculas bioactivas producidas por las plantas poseen gran actividad biológica por lo que son importantes fuentes terapéuticas en el ámbito farmacéutico y de inmenso valor comercial (15,33).

Se han empleado diversas técnicas para la extracción de compuestos activos como la cromatografía, electroforesis y resonancia magnética nuclear con sus respectivas variantes para la detección, identificación y cuantificación de estas moléculas, así como su aislamiento para la producción de bioensayos adaptables a fin de identificar una amplia gama de efectos (15,33).

La presencia de marcadores químicos de compuestos orgánicos se ha realizado a través de HRMS (espectrometría de masas de alta resolución), esta técnica identifica sus principios activos a partir de la masa exacta (m / z), relación de isótopos; y fragmentación, por lo que la HRMS se ha empleado principalmente para determinar flavonoides y alcaloides, de estos marcadores se han estudiado sus actividades biológicas, antiinflamatorias, citotóxicos, antibacterianos y antifúngicos, por mencionar algunos (14,35).

Métodos de extracción

En la literatura científica se mencionan diferentes métodos de extracción para los principios activos de plantas desde sus inicios a la actualidad. Los métodos de extracción sólido-líquido (decocción, infusión, maceración e hidrodestilación) emplean agua, etanol, cloroformo, hexano, acetato de etilo, metanol, etc., siendo el etanol el solvente más utilizado (33).

Existen diversas metodologías para la extracción de los principios activos contenidos en las plantas necesitando un solvente que dependerá del procedimiento y de la naturaleza química del principio activo. Se enlistan los métodos de extracción más importantes:

Percolación: es el método de extracción que consiste en mezclar un solvente regularmente alcohólico o hidroalcohólico capaz de atravesar la materia orgánica

pulverizada en un solo sentido, cediendo todos sus componentes solubles de manera progresiva, se realiza en recipientes cilíndricos o cónicos equipados con dispositivos de carga y descarga, alcanzando una extracción de hasta el 95% total de los principios activos (11,33,36).

Decocción o cocimiento: consiste en llevar a la mezcla de la materia orgánica y el solvente a una temperatura igual a la de ebullición del agua, manteniéndola durante un período de tiempo de 15 a 30 minutos (11,36).

Infusión: proceso en el que la materia orgánica se hidrata previamente al contacto con el solvente y se lleva a temperatura de ebullición del agua por cinco minutos, se deja enfriar y se prepara al 5% (36).

Digestión: es una maceración a una temperatura entre los 50 o 60° C, obteniendo un mayor rendimiento de la extracción; se disminuye la viscosidad del solvente facilitando la penetración al interior de las células y así extraer los principios activos (33,36).

Maceración: es el contacto prolongado de la materia orgánica con el solvente, el contacto circula en todas las direcciones y sentidos, se protege de la luz, y se debe agitar continuamente, el tiempo de maceración es diverso, entre cuatro y diez días (36).

Actividad biológica de los compuestos orgánicos

En el 2013 Olczyk *et al.,* estudiaron el uso de propóleos en el tratamiento de heridas de la piel encontrándose que este facilita la formación del tejido de granulación, estimulando la regeneración epitelial y modulando la deposición de la matriz extracelular.

En distintos estudios reportaron que el uso de propóleos suprime la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), disminuyendo el daño en fibroblastos, a su vez se describe que el estrés oxidativo afecta la vitalidad y expresión de colágeno de los fibroblastos y que extractos etanólicos disminuyeron las ROS, protegiendo las células del daño oxidativo (14,15,33,35).

Martinotti y Ranzato en el 2015 relacionaron que las actividades biológicas de los compuestos orgánicos implicados en la regeneración de tejidos y la reparación de

heridas, podrían estar asociadas con sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias e inmunomoduladoras (14,15).

Estudios sobre la actividad antibacteriana del propóleo en el 2015 por Brown *et al.,* describieron que su actividad es debida a la presencia de flavonoides, ácidos y ésteres aromáticos en su composición, principalmente contra las bacterias Gram positivas ya que estas biomoléculas activas tienen efectos en las paredes celulares de los organismos nucleares a través de un mecanismo aún no conocido (14,33–35).

En un estudio *in vivo* Picolotto *et al* demostraron que la aplicación tópica de la membrana de celulosa bacteriana asociada con extractos de propóleos rojos acelera la curación de heridas en ratones diabéticos por el incremento en el índice de contracción de las lesiones, la disminución de inflamación, así como la reepitelización completa de las heridas sin presencia de costras a los 14 días (35).

Propiedades fitoquímicas del Cazahuate

De acuerdo a la literatura y estudios realizados se encontró la presencia de flavonoides en gran concentración, encontrándose en la literatura que poseen bioactividad bifásica inhibidora a altas concentraciones y activadora a bajas concentraciones, sobre factores de crecimiento como el VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial) entre otros factores de crecimiento, también poseen capacidades antitumorales para cánceres que sobre expresan el receptor de EGF (factor de crecimiento epidérmico) demostrado en ensayos clínicos *in vitro* o fase I/II en células humanas y animales, solo o en combinación con quimioterapia o radioterapia, también se destacó su actividad antiinflamatoria y efectos cicatrizantes (37). Se ha descrito que poseen actividades antimicrobianas, antivirales, antilicerogénicas, citotóxicas, antineoplásicas, mutagénicas, antioxidantes, antihepatotóxicas, antihipertensivas, hipolipidémicas, antiplaquetarias y antiinflamatorias. Así como efectos bioquímicos de inhibición de enzimas como la aldosa reductasa, la xantina oxidasa, la fosfodiesterasa, la Ca (+2) - ATPasa, la lipoxigenasa, la ciclooxigenasa, etc. También poseen un papel regulador de diferentes hormonas como la hormona tiroidea y hormonas sexuales como los estrógenos y los andrógenos, Se ha encontrado que tienen actividad antiinflamatoria en las fases proliferativas y exudativas de la inflamación (38), así como su actividad cicatrizante en modelos biológicos de ratas Wistar (39).

En diferentes estudios realizados se encontró variabilidad de los resultados pudieran estar presentes o no los esteroides, estos interfieren con los procesos de inflamación, proliferación de fibroblastos, síntesis y degradación de colágeno, deposición de tejido conectivo, angiogénesis, contracción de heridas y reepitelización, esto por la interacción de factores de crecimiento y citosinas (40), de este grupo se ha descrito que los brasinoesteroides son hormonas esteroides vegetales y están involucrados en el crecimiento, división y diferenciación celular, activan la vía de señalización PI3K / Akt con efectos androgénicos mínimos, estimulan la proliferación y migración de fibroblastos y la débil proliferación de queratinocitos *in vitro*, esto está justificado por la expresión del receptor de andrógenos en queratinocitos, fibroblastos y células inflamatorias, por lo que acelera la cicatrización de heridas al modular positivamente la fase inflamatoria y de reepitelización al mejorar la señalización de Akt en los bordes de la herida y mejorar la migración de fibroblastos al lecho de la herida (41).

Otro metabolito secundario encontrado es el colesterol, estudios han demostrado que en la piel se sintetizan esteroles en roedores y primates, la esterologénesis epidérmica no es completamente autónoma, ya que responde a influencias regulatorias específicas como el sulfato de colesterol que controla la esterologénesis en humanos (17); otro estudio describe la biosíntesis del colesterol y la vía del mevalonato tienen un papel importante en la formación de barreras en la epidermis, lo que implica efectos inmunomoduladores, reducción del estrés oxidativo, efectos anabólicos en los huesos y estimulación en la curación de fracturas y cicatrización de heridas, en un estudio se describe la acción del FPP (pirofosfato de farnesilo) como ligando para el receptor de glucocorticoides (GR), mediando la inhibición de la migración de queratinocitos, la epitelización y la cicatrización de heridas, sugiriendo nuevas vías terapéuticas para el tratamiento de los trastornos de cicatrización de heridas (42).

La presencia de saponinas, las cuales pueden acelerar diversas actividades biológicas como las funciones hemolíticas, antibacterianas, antivirales, antioxidantes y antiinflamatoria que disminuye el edema y la inflamación de la piel, un estudio describe el uso de una saponina extraída del ginseng que acelera la neovascularización en las heridas por quemaduras de la piel en ratones y aumenta VEGF y la interleucina (IL) -1β(43), otro estudio reporta los efectos de la saponina “ginsenósido Rb” presentó una

acción más fuerte de curación de heridas por quemaduras, aumento de la neovascularización en el tejido circundante y la producción de VEGF e IL -1 β así como del factor inducido por hipoxia (HIF) -1 α en los queratinocitos en la herida por quemadura, en comparación con aquellos ratones con quemaduras tratado con vehículo solo (44).

La posible presencia de alcaloides, se ha reportado el uso de alcaloides en el tratamiento del cáncer, así como en el tratamiento de heridas al reducir el periodo de epitelización, aumentar la contracción de la herida y mejorar la resistencia del tejido; así como también poseer actividad antibacteriana tanto para Gram positivas como para Gram negativas de algunos de los microorganismos presentes en las infecciones de heridas (45), otros estudios reportan la actividad de los alcaloides en el tratamiento de heridas al aumentar autocrinamente los niveles de TGF-beta1 y EGF por fibroblastos (46).

Finalmente, la presencia de lactonas, se ha descrito en diversos estudios el efecto de inhibir significativamente la proliferación de células de cáncer de pulmón de células pequeñas humanas SBC-3 y un menor efecto inhibidor sobre la proliferación de fibroblastos de ratón, así como su posible efecto anti ateroesclerótico al inhibir la proliferación y migración de células vasculares anormales del musculo liso (VSMC) (47). También se ha descrito el uso del ácido glucónico gamma-lactona en el tratamiento de heridas en donde se reportó una mayor rapidez en la reepitelización, mayor contracción de la herida, así como de su resistencia tensil, como también una mayor concentración de colágeno y menor presencia de monocitos en comparación con el grupo control (48).

La piel

La piel considerada la “envoltura viva del cuerpo”; es una membrana fibroelástica que realiza diversas funciones entre las que destacan la protección ante agresiones externas, la termorregulación, la filtración de radiaciones UV, producción de vitamina D, reconocimiento inmunitario, de barrera contra microorganismos; siendo el órgano más extenso y receptor de estímulos sensoriales (49,50).

La piel se divide en tres capas (figura 6):

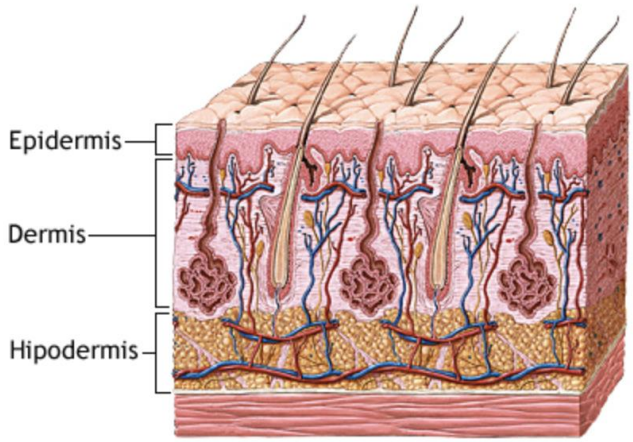


Figura 6. Esquema representativo de la piel en un corte transversal y las 3 capas que la conforman, así como los anexos cutáneos (51)**.**

La epidermis que constituye el 5% del espesor de la piel y mide 0.04 - 1.5 mm, la cual está constituida por un epitelio escamoso estratificado queratinizado formado por los estratos: córneo, lúcido, granuloso, espinoso y germinativo o basal (50,52).

La dermis forma el 95% de espesor total de la piel, está compuesta por tejido conectivo denso con predominio de haces fibrosos de colágena y fibras elásticas, en esta capa se encuentran abundantes vasos sanguíneos y linfáticos, está inervada de forma profusa y contiene los anexos cutáneos; es constituida por dos estratos: el papilar y el reticular (50,52).

El tejido celular subcutáneo o hipodermis: es la capa más interna de la piel compuesta por adipocitos separados por tabiques fibrosos, presenta características similares a la dermis, discrepando el tejido que la constituye con predominio de tejido conjuntivo laxo; relaciona la piel con tejidos más profundos como las fascias de los músculos, el pericondrio o el periostio (50,52).

Anexos cutáneos: son estructuras que contribuyen en la fisiología de la piel, se originan en la epidermis y están contenidos en la dermis enlistándose los siguientes elementos: complejo pilosebáceo, glándulas apócrinas, glándulas ecrinas o sudoríparas y uñas (50,52).

En el 2013 Corredor, G. Menciona que la habitual exposición a las agresiones del medio lo predispone a sufrir daños que afectan su entereza modificando el desarrollo de sus funciones (49).

Heridas

Las heridas son definidas como una disrupción de estructuras funcionales y anatómicas(52–54), y son una afección muy frecuente, en ocasiones puede llegar a poner en riesgo la vida de los pacientes, son la resultante de una perdida de la continuidad de la superficie de la piel, causada generalmente por cortes, desgarros, quemaduras, contusiones o cambios bruscos de temperatura, ya que altas temperaturas desnaturalizan las proteínas y la temperatura por debajo de cero grados genera cristales intracelulares, así como por descargas eléctricas, entre otra causas, por lo que es importante conocer la causa de la herida para dar el tratamiento, cuidados adecuados y para estimar un tiempo de cicatrización adecuado, es prescindible saber el tiempo transcurrido desde que se originó la herida para evitar complicaciones (54–57).

Tipos de heridas

Las heridas tienen diversas clasificaciones según su aspecto, tiempo de evolución, grado de contaminación, extensión a otras estructuras y mecanismo de acción que los origina, por lo que se enlistan algunas de estas.

Según aspecto de herida se clasifican en;

Contusa: no presenta bordes netos (53,54,56).

Cortante: tiene bordes definidos (53,54).

Contuso cortantes: parando tejidos y planos subyacentes de forma ligeramente irregular por impacto, compresión o deslizamiento, presenta equimosis perilesional (53,58).

Punzocortante: predomina la profundidad más que la extensión (56,58).

Punzante: es aquella que es originada por arma blanca.

Atrición: es originada por aplastamiento de un segmento del cuerpo (53,54).

Avulsión arrancamiento o amputación: es aquella que presenta escisión de un segmento corporal (53,54).

Colgajo: porción de la piel que está unida sólo por su base.

Abrasiva o erosiva: múltiples áreas sin epidermis, conservando el resto de las capas de la piel (53,56).

Quemadura: es la lesión resultante de la exposición a agentes físicos, químicos o biológicos que puede originar alteraciones locales o sistémicas, reversibles o no dependiendo de varios factores (59).

Otra clasificación se basa según mecanismo de acción, en las que encontramos: heridas por arma blanca, por arma de fuego, por objeto contuso, por mordedura, por agente químico o por agente térmico. También se clasifican dependiendo el compromiso a otras estructuras en simples o complicadas, con pérdida o sin pérdida de la sustancia dependiendo de esta, o según su grado de contaminación se clasifican en limpias si presenta un tiempo menor a 6 h de evolución, con mínimo daño tisular y no penetrante o sucias si presenta más de 6 h de evolución, es penetrantes o con mayor daño tisular (52–54,56).

Herida quirúrgica aguda

En 1994 se realizó un consenso en el que se definió como herida a toda disrupción de estructuras funcionales y anatómicas y definiéndose como aguda a aquella herida en la que se restaura anatómica y funcionalmente en un plazo límite menor a 30 días (53). La mayoría de estas heridas presentan una cicatrización rápida y sin complicaciones, diversas causas del paciente o por la propia cirugía pueden alterar el proceso de cicatrización como lo son las infecciones de las heridas; la proliferación bacteriana puede resultar en los ejemplos siguientes (52,54):

Contaminación: presencia de microorganismos en la herida, no vence la inmunidad del hospedero, su presencia es transitoria y no retrasa la cicatrización (54,56).

Colonización: hay proliferación de microorganismos sin afectar al hospedero ni genera una infección (53,55,56).

Colonización crítica: es un estadio intermedio entre la colonización y la infección, presenta un retraso en el proceso de cicatrización por abundante crecimiento de microorganismos (54,56).

Infección: los microorganismos proliferan e invaden los tejidos generando lesiones celulares y reacciones inmunitarias, alterando el proceso de cicatrización (52,53,60).

Independientemente del tipo de herida se debe procurar de forma que al final de la cicatrización quede reparada anatómica y funcionalmente siguiendo las recomendaciones para cada tipo de herida desde la anestesia local, control de hemostasia, limpieza de la zona, cierre de la herida atraumática evitando la tensión y usar un material de sutura adecuado considerando el estado de los bordes y el tiempo transcurrido y grado de contaminación, hacer empleo de cuidados adicionales como terapia térmica, inmovilizaciones y/o uso de antibioticoterapia, en caso que lo amerite inmunización antirrábica y antitetánica.

Cicatrización

Es el proceso de reparación de la disrupción de tejidos con una secuencia ordenada de eventos biológicos establecidos, en un tiempo determinado (figura 7), tratando de recuperar la integridad anatómica, funcional y estética de los tejidos dejando una cicatriz (52,56,61).

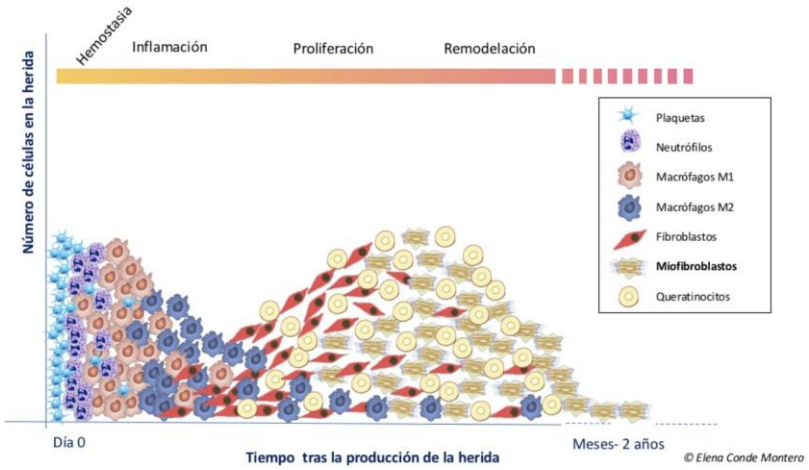


Figura 7. Esquema ilustrativo del proceso de cicatrización (62).

En el 2008 Villalba L. et al., definieron la reparación de una herida como un conjunto de sucesos activos y dinámicos superpuestos en tiempo dividido en tres fases: “inflamatoria”, “proliferativa” y de “remodelación tisular” (figura 8) (33,54,63), en la fase inflamatoria ocasionada por la lesión en el tejido hay extravasación de plasma y otros componentes celulares por disrupción de vasos sanguíneos activando los elementos

formes de la sangre hasta la formación del tapón hemostático, interviniendo la cascada de coagulación y la agregación plaquetaria (54).

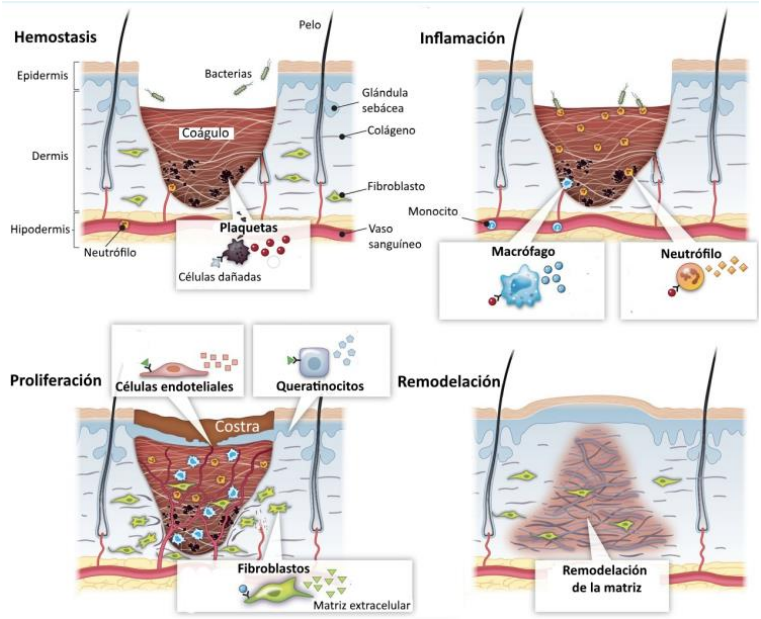


Figura 8. Esquema representativo de las fases de cicatrización (64).

Proceso de cicatrización

La cicatrización depende de la hemostasis y de la inflamación inicial, originada por alguna lesión siendo esta etapa conocida como fase aguda, seguida de una fase proliferativa que dará origen al tejido de granulación por células epidermales, endoteliales y fibroblastos a la cual sobreviene una fase inflamatoria tardía, caracterizada por neovascularización dependiente de factores como: el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), neurotrofinas estimuladoras de proliferación aunados a la actividad quimiotáctica y supervivencia de las células responsables de formar una nueva matriz de colágeno para finalmente formar una escara y generar la remodelación del tejido de granulación, generando nuevas fibras de colágeno y el cambio fenotípico a miofibroblastos lo que aumenta la fuerza tensil y permite la aproximación de los bordes de la lesión (1,52,54,61).

Adhesión plaquetaria y formación de coágulo

Inicialmente ocurre la adhesión de las plaquetas al tejido intersticial la cual se lleva a cabo en las primeras horas, activándose por la trombina formada localmente y el colágeno fibrilar expuesto, resultando así la degranulación liberando mediadores como: fibrinógeno, fibronectina y trombospondina, que median la agregación plaquetaria, y el factor VIII de Von Willebrand favoreciendo la adhesión plaquetaria por medio del receptor plaquetario de integrina αIIbβ3, el adenosín difosfato (ADP) y la trombina quienes atraen más plaquetas a la zona lesionada, generando así la agregación plaquetaria para la creación del tapón hemostático (1,54,57).

De forma paralela las células endoteliales producen prostaciclina, que inhibe la agregación, limitando así este proceso. Las plaquetas a su vez sintetizan factores de crecimiento esenciales para la recuperación de las heridas como: el factor derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformante β (TGF β) con acción mitógena y quimiotáctica en los fibroblastos, además del factor transformante α (TGF α), y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) que favorecen la reepitelización. La creación del coágulo es generado por la cascada de coagulación ya sea por la vía intrínseca o extrínseca, a través de la formación de trombina, transformando el fibrinógeno en fibrina causando así la coagulación de la sangre, además de activar las plaquetas. El fibrinógeno se une a las plaquetas se unen para formar una matriz de fibrina lo que origina la formación de un trombo, generando hemostasia y junto con la fibronectina genera una matriz provisional para el desplazamiento de monocitos, fibroblastos y queratinocitos (figura 9) (52,54,55,57).

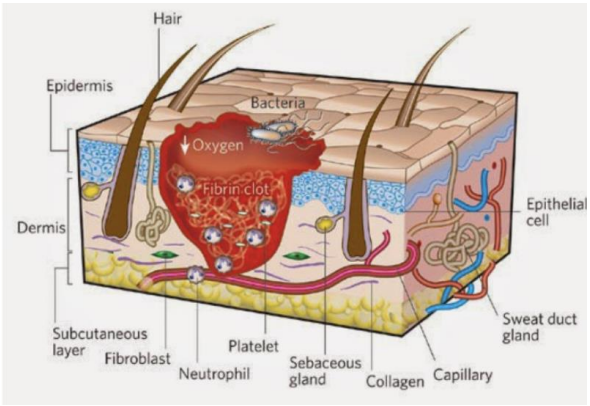


Figura 9. Representación esquematica de la hemostacia y respuesta inflamatoria (65).

Fase inflamatoria

La fase inflamatoria inicia a las 6 horas aproximadamente de originada la lesión caracterizada por la llegada de los neutrófilos (figura 10) al sitio de la herida por estímulos quimiotácticos específicos como el factor estimulador de colonias de granulocitos / macrófagos (GM-CSF), la kalikreína y los fibrinopéptidos, los cuales favorecen la marginación vascular para la diapédesis incrementando la expresión del complejo CD11/CD18, los neutrófilos atrapados en el tapón hemostático se disecan en él, mientras que los que quedan viables en el tejido pasan a apoptosis para ser removidos por los macrófagos, aproximadamente a los dos o tres días de originada la lesión, se produce la aglomeración de monocitos reemplazando a los neutrófilos, por medio de la estimulación de factores quimiotácticos que al llegar al tejido sufren un cambio fenotípico a macrófagos y se unen a proteínas de la matriz a través de receptores de integrina, favoreciendo la fagocitosis para la descontaminación del foco y el desbridamiento autolítico por secreción enzimática, aumentando así la destrucción tisular, estimulando la inducción de angiogénesis y la formación de tejido de granulación, estos sufren una nueva trasformación a células reparadoras que liberan señales específicas que desempeñan un importante papel en la neoformación tisular (52,54,57).

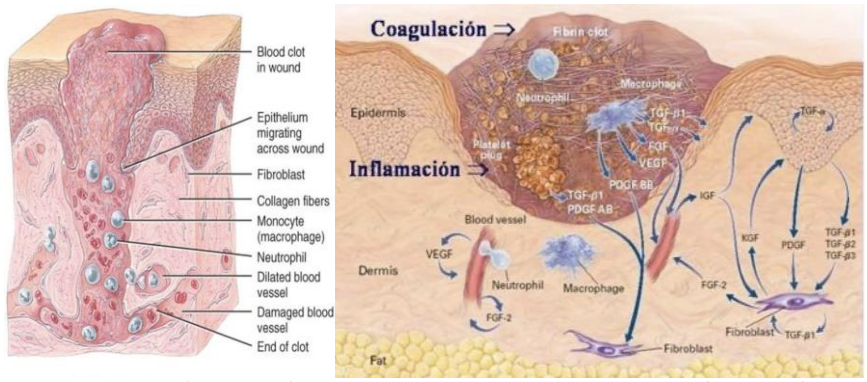


Figura 10. Representación esquemática de la fase inflamatoria con la estimulación quimiotáctica de neutrófilos y monocitos (66,67).

La fase proliferativa

La fase proliferativa está conformada por los siguientes procesos: "fibroplasia", "angiogénesis", "reepitelización", y "contracción de la herida" (54). Las citoquinas secretadas por trombocitos y macrófagos favorecen la liberación de factores de crecimiento como TGF β1, PDGF, factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF) y VEGF que estimulan la proliferación de fibroblastos, estos llegan al sitio de la herida entre las 48 y 72 horas posteriores a la lesión sobre una matriz laxa de fibronectina, esta matriz forma un modelo para las fibrillas de colágeno e interviene en la contracción de la herida. A medida que los fibroblastos se desplazan van depositando una nueva matriz de fibronectina y ácido hialurónico, a partir del tercer al quinto día estos son estimulados para sintetizar la matriz de colágeno tipo I, III y VI, una vez que ya es depositada una cantidad suficiente se inhibe la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno por acción del interferón γ (INF γ) y de la matriz (52,54,57).

La angiogénesis (figura 11) inicia paralelamente con la fibroplasia, las células endoteliales al segundo día del proceso de cicatrización sufren una transformación que les permite proyectar pseudópodos a través de las membranas y migrar al espacio perivascular. La interacción del factor de crecimiento vascular – endotelial (VEGF) y las angiopoyetinas (Ang) tiene un papel esencial en proliferación endotelial convirtiendo las células endoteliales más laxas y reduciendo el contacto con la matriz,

a su vez el TGF β estimula la síntesis de proteoglicanos y fibronectina para constituir la matriz provisional, favoreciendo la migración celular e inducción del fenotipo apropiado para la formación de tubos capilares (49,54,61).

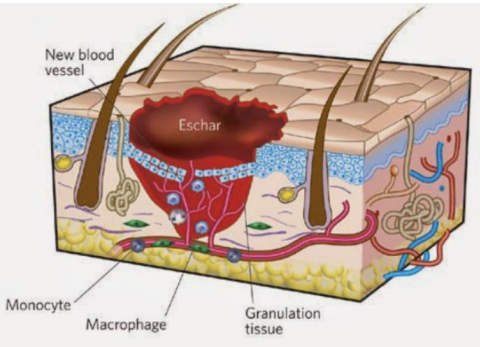


Figura 11. Representación esquemática de la fase proliferativa, en la que se observa la neovascularización para la formación de plexos capilares (65).

.

Los fibroblastos y macrófagos secretan componentes de la matriz como la proteína ácida y rica en cisteína (SPARC), la trombospondina y la tenascina, proteínas anti adhesivas que desestabilizan las interacciones célula-matriz, permitiendo la angiogénesis. A medida que las células endoteliales se desplazan hacia el intersticio forman brotes capilares los cuales se dividen en sus extremos para unirse y crear asas que conformaran los plexos capilares. Posterior a 1 o 2 días del cese de los estímulos angiogénicos, los capilares sufren una degeneración por tumefacción mitocondrial en las células endoteliales de los extremos distales de los capilares, seguido de adherencia plaquetaria a estas células y se degradan los capilares necrosados por los macrófagos. Por último, se genera reclutamiento de células periendoteliales que estabilizan los vasos recién formados, proceso que se realiza por la unión de la angiopoyetina (Ang1) con el receptor de células endoteliales tirosina quinasa (Tie 2), aumentando el contacto con la matriz, estos neovasos son mantenidos y favorecidos para su formación por medio de receptores de integrina (52,54,57).

Los queratinocitos se desplazan desde los bordes de la herida o desde apéndices remanentes, gracias a una modificación que consiste en el cambio del aparato de adhesión por el motor y la expresión de queratina, originando la pérdida de unión entre las mismas células epidérmicas y de estas con la membrana basal y la dermis

subyacente. El queratinocito (figura 12) es transformado en célula hiperproliferativa y migratoria por la acción de la interleucina-1 (IL-1), que al llegar este a la herida se desplaza a través de un sustrato provisional rico en fibronectina regulado por receptores integrínicos y la liberación de TGF β, posteriormente será sobre la matriz definitiva rica en colágeno mediado por receptores colangénicos (α 2- β1) y la secreción de TGF /EGF(49,54,57,61).

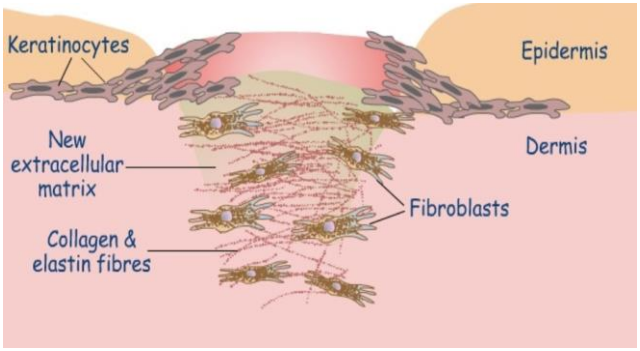


Figura 12. Representación de la quimiotaxis del queratinocito y su desplazamiento por la matriz (68) **.**

La proliferación transcurre simultáneamente a la migración (figura 11), las células proximales proliferan por la liberación de estímulos específicos y por la falta de continuidad de células al igual que las células que se encuentran en los márgenes de la herida, éstas continúan su viaje hasta finalizar su proceso por la señalización de INF γ y el TGF β el primero es generado por las células inflamatorias que interviene en la expresión de queratina K17 que favorece la reorganización de la matriz de la membrana basal y el segundo que promueve la producción de queratinas K5 y K14 que esta a su vez lo transforma en célula basal para comenzar la diferenciación. La acumulación de laminina en la membrana basal le indica al queratinocito que la lesión ya está reparada y no hay necesidad de migrar (52,54,57).

La contracción de la herida ocurre alrededor del noveno día de cicatrización (figura 13), los fibroblastos cambian su fenotipo a miofibroblasto, con abundantes microfilamentos de actina en la parte citoplasmática estableciendo uniones adherentes (célula-célula) y uniones con la matriz extracelular por medio de receptores integrínicos; el colágeno generado se une por medio de enlaces cruzados con haces de la dermis colindante y con los bordes de la herida formando una malla para que la tracción realizada por los fibroblastos a la matriz se transmita de manera coordinada y uniforme, es regulada por diversos estímulos, dando como resultado una disminución del 40% aproximadamente respecto al tamaño original (52,54,57).

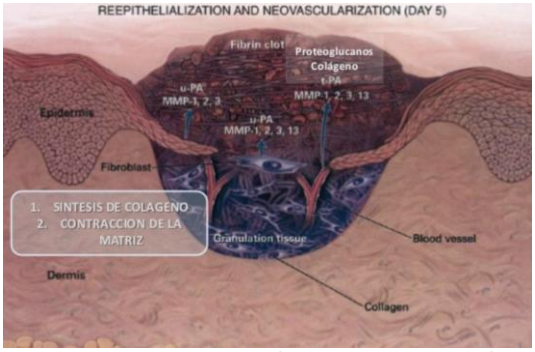


Figura 13. Imagen representativa de la contracción de la herida por acción de los fibroblastos a través de la malla formada por colágeno (69).

Remodelación tisular

La remodelación tisular inicia simultáneamente a la fibroplasia continuando por meses (figura 14), el fibroblasto quien genera fibronectina, ácido hialurónico y otras sustancias en la fase de reparación con el tiempo van desapareciendo por actividad enzimática, el colágeno tipo III producido durante la cicatrización es sustituido por el tipo I que es más estable y similar a la dermis original (54,57,61). Al término de un año la cicatriz resultante obtiene una máxima fuerza tensil del 70% en comparación con el tejido sano, debido al colágeno fibrilar que forman los haces fibrosos aumentando la resistencia a la tensión del nuevo tejido, en este tejido la acción celular se restringe y se vuelve abundante en colágeno, escaso de células y vasos, sin folículos pilosos, sin glándulas sudoríparas ni sebáceas, al recuperar la composición de la dermis la

reparación se considera finalizada. La organización y la síntesis de colágeno son influidas por la edad, fuerza tensil y la presión. No obstante, las cicatrices son de menor resistencia y elasticidad que la piel normal, debido a la insuficiencia de elastina y a la desorganización de la matriz extracelular reconstruida (52,54,57).

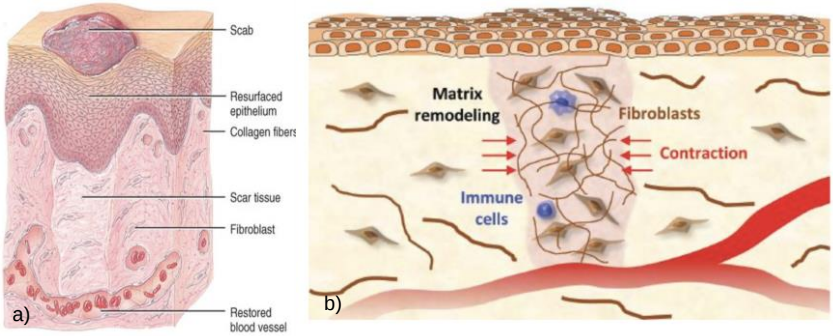


Figura 14. a) Esquema representativo de la maduración del tejido (66) b) Esquema de la remodelación tisular que puede durar hasta más de un año (70).

Tipos de cicatrización

Existen varios tipos de cicatrización por lo que se enlistan los dos tipos más utilizados en el ámbito medico:

Cicatrización ideal: aquella que devuelve la normalidad anatómica, funcional y apariencia, sin cicatriz externa ejemplo de esta es la cicatrización fetal (52,56).

Cicatrización aceptable: aquella que depone una cicatriz, devolviendo la continuidad anatómica y funcional.

Cicatrización mínima: este tipo de cicatriz devuelve la integridad anatómica pero no logra buenos resultados funcionales (52,55,60).

Cicatrización ausente: es aquella en la que no se restaura la integridad anatómica a pesar de todas las terapias disponibles, ejemplo de esta son las úlceras crónicas (52,71).

Otra clasificación para las heridas agudas se basa en las tres formas de cicatrización, por su tipo de cierre o intención (figura 15), el cual depende de la contaminación, forma, objeto con que se originó la lesión y tiempo transcurrido desde que se originó la lesión (52,60).

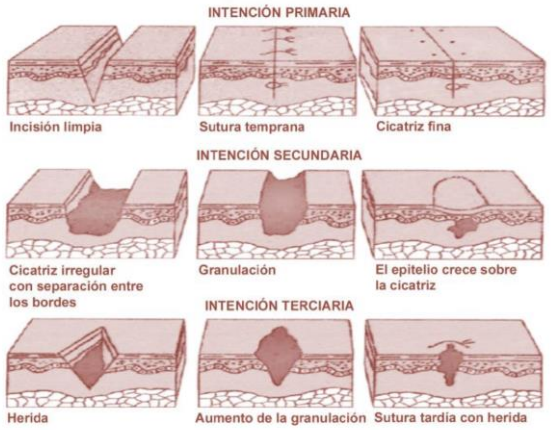


Figura 15. Representación esquemática de los tipos de cicatrización por tipo de intención (72).

En la cicatrización por primera intención los tejidos cicatrizan por unión primaria, con las siguientes características: mínimo edema, sin exudado, en un tiempo breve, bordes de la herida bien afrontados y con mínima cicatriz (49,52,53,56).

En la cicatrización secundaria o por segunda intención la herida presenta un proceso prolongado y complicado, cicatrizando desde las capas profundas y bordes, generando tejido de granulación con miofibroblastos y cerrando por contracción, por lo que el proceso es lento y la resultante es una cicatriz poco estética (52,56,60).

La cicatrización terciaria o cierre diferido, es un método seguro de reparación para heridas muy contaminadas o en tejidos muy traumatizados, realizándose un aseo minucioso de la lesión y difiriendo el cierre en un lapso de tiempo que va desde el tercer al séptimo día dependiendo de la evolución de la herida (52,53,55).

Cicatrización patológica

Se define como un proceso de cicatrización anormal en el que no devuelve la integridad anatómica, funcional y/o estética de la piel y abarca un espectro que va desde la falta de cicatrización hasta la producción excesiva de cicatriz, dividiéndose en dos grupos: cicatrización patológica insuficiente (cicatriz inestable y heridas crónicas) y cicatrización excesiva, (queloides, cicatrices hipertróficas y contracturas) (53,71), las cuales definimos a continuación:

Cicatriz hipertrófica: es una lesión fibrosa, eritematosa, eminente y pruriginosa formada en los bordes de la herida, generalmente en área de tensión, habitualmente presenta un modelo de regresión espontánea parcial con mínima predisposición a la recidiva post extirpación quirúrgica (53,71).

Cicatriz queloide: lesión con aspecto anormal, color rojo-rosado o púrpura y a veces hiperpigmentada presenta bordes limitados irregulares excediendo los márgenes iniciales de la herida, el epitelio es delgado y presenta áreas de ulceración, presentan dolor y prurito, es muy común su recidiva ante su exéresis (53,54,71).

Retracción patológica: contraria al proceso normal de cicatrización en la reducción de tamaño de la herida, en esta disminuye la capacidad de la piel en las articulaciones flexoras, generalmente es secundario a quemaduras (53,71).

Cicatrización insuficiente: la cicatrización es inconsistente, mínima o en ocasiones casi inexistente originando la herida crónica (53,71).

Patologías asociadas a alteraciones en la cicatrización

Hay ocasiones en la que el proceso de cicatrización se encuentra alterado por deficiencias o excesos, estas condiciones que modifican la actividad celular del individuo son generadas por diversas patologías con actividad sistémica como la hipertensión vascular, la diabetes mellitus, dislipidemias y síndromes metabólicos por mencionar algunas, o bien por efectos de medicamentos o hábitos toxicológicos como el tabaquismo o el abuso en el consumo de alcohol por lo que se describe brevemente como estas condiciones especiales afectan el proceso de cicatrización ya sea de manera directa o indirecta.

La enfermedad arterial periférica genera una reducción lenta y gradual del flujo sanguíneo, así como del aporte de oxígeno a los tejidos de los miembros inferiores principalmente, ocasionando isquemia propiciando la ulceración, además de generar la extravasación de plasma y proteínas hacia el espacio intersticial favoreciendo la aparición de edema veno-linfático, induración y fibrosis, incremento del fibrinógeno y del volumen corpuscular propiciando la hiperviscosidad y riesgo de trombosis, así como el depósito de proteínas en el espacio extravascular predisponiendo al desarrollo de procesos inflamatorios (54,57,71).

En los diabéticos perdura la etapa inflamatoria con una concentración superior de TNF y metaloproteinasas, alteración del IGF I y II, reducción de la proliferación de fibroblastos, dando como resultado una disminución del colágeno I y II y menor formación de matriz, se restringe el uso del óxido nítrico alterando la función de los neutrófilos. Se modifica la angiogénesis y la formación de tejido de granulación. La microangiopatía y la neuropatía disminuyen la disponibilidad del oxígeno (54,57).

En los pacientes con corticoterapia prolongada las heridas se cronifican porque estos fármacos actúan en la fase inflamatoria inhibiendo a los macrófagos, la síntesis proteica y la proliferación celular. Los AINES presentan efecto sobre las prostaglandinas inhibiéndolas, alterando la síntesis de colágeno (54,57,60,71).

3.2 Antecedentes específicos

En 2008 Gurtner *et al* describieron la curación de heridas como uno de los mayores desafíos en la investigación médica y biomédica, por el complejo proceso que implica y las particularidades de cada una de sus etapas que están relacionadas y controladas por factores locales y sistémicos específicos que pueden ser afectados por muchas variables (15).

Frykberg y Banks en el 2015 expusieron que en las enfermedades crónicas la cicatrización de las heridas está alterada por un factor sistémico, otro estudio en 2007 por Oliveira *et al*, menciona que en pacientes con enfermedades crónicas la sobreexpresión de la inflamación altera la cicatrización de las heridas afectando el proceso de reparación al aumentar el edema, por un incremento excesivo de exudado propiciando que esta infecte por crecimiento bacteriano ocasionando la inhibición de la proliferación de fibroblastos y la deposición de colágeno, por lo que los pacientes suelen presentar una tasa de curación más lenta y un empeoramiento más rápido de la herida provocando complicaciones que alteran significativamente la calidad de vida del paciente, por lo que el tratamiento implica desde las medidas óptimas para la curación de la herida como los factores locales y sistémicos que pudieran alterarla (15).

Tratamientos convencionales para la regeneración celular

Una alternativa para la regeneración celular ha sido el empleo de equivalentes de piel *in vivo* que han mostrado eficacia para el tratamiento de heridas diabéticas neuropáticas crónicas de bajo grado, encontrándose reducción significativa del tiempo de curación, estos biorreactores locales nutren a las células del lecho de la herida con factores de crecimiento y proteínas de la matriz extracelular (MEC) lo que mejora o previene la replicación y proliferación deficiente (54,60).

Otro enfoque en la terapéutica se ha centrado en la regulación del proceso inflamatorio y sus efectos colaterales, su objetivo ha sido la inhibición de TNF-α, evidenciado por el uso de doxiciclina, antibiótico que inhibe las metaloproteinasas, éste mejoró la cicatrización de las úlceras crónicas del pie diabético, otros estudios emplearon el anticuerpo terapéutico anti-TNF-α neutralizante (infliximab) administrado por vía tópica en la que se observó mejoría en la curación de úlceras crónicas de etiología multifactorial, a pesar de la naturaleza de los diversos estudios, el concepto biológico es el mismo la neutralización de TNF-α. Así mismo se esperan conceptos novedosos en la terapéutica para la manipulación farmacológica del eje de productos finales de la glicación avanzada - receptores de productos finales de la glicación avanzada (AGE-RAGE), intervención encaminada a la disminución de AGE acumulados en la circulación y tejidos, pudiendo llegar a ser de valor profiláctico, de misma manera para evitar la activación RAGE, teniendo en cuenta que la hipótesis de que un RAGE soluble restituiría la progresión de curación ya fue validado experimentalmente (1,57,60).

También se han empleado diversos fármacos para reepitelización o aumento de la fuerza de tensión de las heridas principalmente por vía tópica como el ácido lisofosfatídico (LPA) que es producido por plaquetas y fibroblastos durante la cascada de coagulación, el cual es un mediador de lípidos que regula la proliferación celular, mejora la motilidad celular y amplifica la producción de metaloproteinasas de matriz *in vitro*, esenciales en la reparación de heridas. Un estudio analizó los efectos del LPA en un modelo biológico a través de herida de piel de rata de espesor completo, el cual se evidenció un cierre acelerado y aumentó el grosor neoepitelial por incremento de las células proliferativas siendo dosis – dependiente. Observándose su punto máximo el tercer día sugiriendo que el uso exógeno de LPA favorece la regeneración celular a

través de los histiocitos los cuales son sensibles *in vivo* al LPA (1,2), mientras que los tratamientos para quemaduras generalmente se emplean productos derivados de plata, los cuales a pesar de controlar las infecciones retardan la cicatrización por su citotoxicidad, tanto *in vitro* como *in vivo*, en vendajes con plata, se observa retraso e inhibición en la reepitelización de las heridas (1,60).

Otros tratamientos emplean biomateriales como Tegaderm Nanofiber (TG-NF), el cual es un copolímero que permite la reparación del estrato dérmico poblado por fibroblastos, otros autores compararon suturas revestidas con triclosán contra suturas simples encontrando un mayor promedio de dehiscencia en las afrontadas con suturas recubiertas, también se estudió el uso de trombina en aproximación parenteral por medio de inyecciones directas en el lecho de la herida en un biomodelo, la trombina se utilizó unida a nanopartículas de maghemita, encontrándose que optimizaba la fuerza de tensión en comparación con el grupo control. Diferentes estudios con biomodelos de lesiones escisiónales que emplearon vesículas lipídicas unilamelares, con Magnesio–Adenosintrifosfato, se observó que el grupo tratado con estas obtuvieron diferencias importantes en el periodo de cicatrización en comparación con el grupo control, también se encontró que VEGF presentó mayor expresión en el tejido granular al igual que la reepitelización en el grupo que recibió el tratamiento, también se halló que fármacos como furosemide, aminofilina y ácido ascórbico pueden incrementar o reducir la interacción de iones, produciendo cargas eléctricas en la herida acelerando o retrasando su cicatrización (1,60,73).

Medicina tradicional y el cazahuate

Actualmente, el cazahuate es utilizado de manera tradicional para el tratamiento de diversas patologías en la población indígena centroamericana de las cuales destacan: enfermedades dermatológicas en las que se lavan las partes afectadas con una decocción de flores, hojas, tallo y corteza, y la misma decocción se bebe para tratar picaduras de escorpión, el látex se aplica directamente a las mordeduras de serpiente, afecciones reumáticas, hematomas e inflamación se tratan con yesos o cataplasmas de flores y hojas. En caso de distensión abdominal y dolor de estómago se emplean infusiones, ya sea de hojas solas o en combinación con otras plantas medicinales bebiéndose la infusión en ayunas, en estados de la República Mexicana como lo son

Morelos y Estado de México se usa infusión de corteza como tratamiento para alopecia lavando la zona afectada, en Michoacán se emplea para el tratamiento de prurito y erupciones cutáneas, dolor e inflamación, golpes, dolor reumático, y picadura de alacrán (4,24). Otros padecimientos en los que se emplean por sus propiedades medicinales son odontalgia, tos, en la hidropesía y otitis, además, en procesos inflamatorios ginecoobstétricos como enfermedad pélvica inflamatoria y cólico menstrual, ansiolítico y diurético (4,26,40). En Guatemala se emplean tónicos compuestos de corteza, hojas, flores, raíz y tallos como tratamiento de diversos padecimientos en la población desde problemas dermatológicos, gastrointestinales hasta antiveneno de insectos, inclusive como repelente de plagas como mosquitos entre otros (22,23,25,74).

Usos de *Ipomoea pauciflora* en la regeneración celular

En un trabajo previo, se analizó de forma cronológica el efecto cicatrizante del extracto acuoso de *Quercus ilex* sobre heridas en ratas cepa Wistar, se comparó con un producto de uso comercial (Dermatix®) y un grupo control, los resultados de este estudio demostraron que el *Quercus ilex* favorecía el proceso de cicatrización en un 40% en comparación a la del grupo control y un 20% a la grupo con el producto comercial (Dermatix ®) (75) como se puede observar en la siguiente figura.

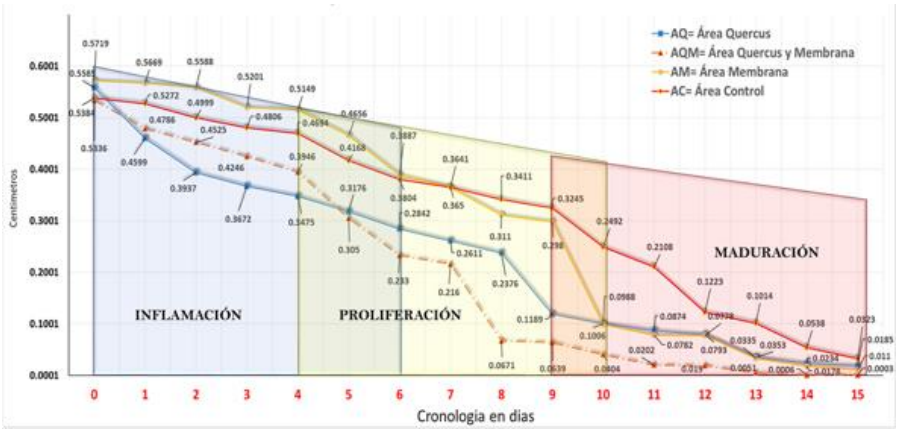


Figura 16 Se muestra la gráfica lineal obtenida del análisis de los datos del programa EMOTICAM-PLUS, donde se observó la curva obtenida de las heridas cotejada con el control, de forma cronológica.

En marzo 2016 en el Laboratorio de Fisiología Celular de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, se analizó la actividad pro cicatrizante de extractos acuosos de diferentes partes del cazahuate (raíz, corteza, flores, hojas y semillas), obtenido por método convencional por infusión comparándose con un producto comercial como control positivo y un control negativo donde se administró solución fisiológica, los resultados de este estudio demostraron que la corteza presentaba mayor efecto procicatrizante en comparación con los demás extractos y que ambos controles, por lo que se decidió estudiar específicamente esta parte del cazahuate (76).

Otro trabajo realizado en el Laboratorio de Fisiología Celular de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en septiembre 2016, se analizó la actividad pro cicatrizante de extractos acuosos de cazahuate obtenido por método convencional, por infusión a diferentes dosis, los resultados de este estudio demostraron que no había diferencia significativa en la aplicación de dosis mayores a 25 µL, por lo que se estandarizó como la dosis mínima efectiva para su uso (76,77).

En un experimento piloto en el laboratorio se evaluó el efecto cicatrizante y antinflamatorio usando extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* obtenido por método convencional por infusión, demostrando que los grupos a los que se les administró el extracto acuoso de cazahuate obtuvieron una cicatrización completa y menor respuesta inflamatoria observada a través de cortes histológicos en comparación con los grupos control y en el grupo tratado con cazahuate y ketorolaco como AINE la repuesta inflamatoria fue aún menor. (77,78).

Se realizó un estudio por medio de espectrometría UV visible que analizó el espectro de los compuestos presentes en el extracto acuoso de cazahuate obtenido por el método convencional de infusión y el método asistido por microondas en el que se encontró un espectro similar en ambos extractos, dicho estudio estuvo a cargo del Laboratorio de Fisiología Celular de la facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en el año 2019 (77), se compararon los resultados con los encontrados en la literatura para *Ipomoea murucoides* en donde se encontró un comportamiento similar en las longitudes de onda principalmente en los correspondientes a compuestos fenólicos, lactonas y saponinas (79), eligiéndose para su estudio el extracto acuoso de cazahuate asistido por microondas.

Por lo que se requiere realizar un estudio con una población mayor para lograr una significativa adecuada y poder corroborar los efectos cicatrizantes, así como comparar los efectos producidos por otro método de extracción y dar inicio a la búsqueda de los componentes responsables de estos efectos.

Hasta el momento no hemos encontrado bibliografía referente a esta especie en concreto, sólo de la misma familia y únicamente se describen efectos como potenciadores de antibióticos o plaguicidas por eso del interés en estudiarla.

4. Planteamiento del problema

En la actualidad, con el aumento de la industrialización y de los procesos productivos se ha incrementado la incidencia de accidentes, generando diferentes tipos de lesiones en el organismo, en el sistema tegumentario los tratamientos empleados para el cuidado de heridas generalmente son tópicos y resultan ser muy costosos, incrementándose en los pacientes que poseen comorbilidades por mayor tiempo de aplicación, así como la polifarmacia que se pueda generar, ya que al aumentar el tiempo de la resolución de la herida por las alteraciones funcionales que el tejido presenta por los descontroles metabólicos, aumenta la posibilidad de que se infecte o sobreinfecte complicándola, siendo necesarios múltiples fármacos que pudieran alterar el proceso de reepitelización, además de medidas y tratamientos más costosos incrementando los gastos tanto para las instituciones como para los pacientes y sus familiares, por lo que este trabajo busca ofrecer un tratamiento eficiente a bajo costo, y con resultados a corto plazo permitiendo la conservación de las características similares del tejido original como lo son los anexos cutáneos y resistencia a la fuerza tensil.

De acuerdo con lo reportado en la literatura y estudios fitoquímicos de la corteza, realizados por nuestro grupo de investigación, se encontró la presencia flavonoides, colesterol alcaloides, esteroides, saponinas en su corteza, estos compuestos pueden interferir en la actividad inflamatoria al regular o favorecer la secreción de factores de

crecimiento como el VEGF o mediar la proliferación y migración de fibroblastos y queratinocitos e inclusive presentar actividad antibacteriana en estudios *in vitro.*

Se realizó un estudio preliminar en nuestro laboratorio, se analizaron las diferentes partes *Ipomoea pauciflora* para determinar cuál poseía mayor efecto cicatrizante encontrándose mayor efecto en la corteza, por lo que se decidió el uso de esta parte de la planta y el método asistido por microondas que demostró mejor efecto de sanación de heridas comparado con el obtenido por el método convencional por infusión (77).

Por lo que para el desarrollo de este trabajo empleamos extractos acuosos de *Ipomoea pauciflora* como agente pro cicatrizante en el tratamiento de heridas en un modelo experimental, lo que nos llevó a la siguiente pregunta:

¿Cuáles son los efectos histomorfológicos de los extractos acuosos de *Ipomoea pauciflora* como pro cicatrizante en la recuperación postquirúrgica por segunda intención en ratas de la cepa Wistar?

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Comprobar el efecto del extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora como* pro cicatrizante en la recuperación postquirúrgica en heridas con cierre por segunda intención en ratas de la cepa Wistar.

5.2. Objetivos Particulares

- Determinar el efecto del extracto de *Ipomoea pauciflora* en heridas cutáneas con cierre por segunda intención, mediante cortes histológicos teñidos con la tinción de Masson para la evaluación de colágena y anexos cutáneos en tejido.
- Analizar la fase de cicatrización en la que interviene el extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* en heridas con cierre por segunda intención en ratas cepa Wistar mediante análisis histomorfológico.

6. Material y métodos

6.1 Diseño del estudio

Experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo.

6.2 Modelo de estudio:

Ratas de la cepa Wistar, machos, de 12 a 14 semanas de vida con un peso de 280-330g.

6.3Ubicación espacio – temporal

El estudio se realizará en el vivario y Laboratorio Fisiología Celular de la Facultad de Medicina de la BUAP.

6.4 Estrategia de trabajo

En un periodo de 15 días se determinó el potencial cicatrizante del cazahuate para cada grupo experimental que comprendió el proyecto.

Comentado [MCG4]: Revisa que todo el texto este en pasado

De acuerdo con los resultados obtenidos en fases preliminares se determinó una dosis de 25 µL de solución estéril para el grupo control negativo, 25 µL del producto comercial Dermatix para el control positivo y 25 µL de extracto acuoso de cazahuate obtenido por el método asistido por microondas que equivale a 0.25mg de materia orgánica.

6.5 Muestreo

6.5.1 Definición de la unidad de población

Experimento *in vivo*

Se emplearon ratas jóvenes de 12 a 14 semanas de vida con un peso de 280-330g de la cepa Wistar criadas en el Bioterio “Claude Bernard” de la BUAP.

6.5.2 Selección de la muestra

Ratas cepa Wistar, jóvenes, sanas con un peso de 280 a 330 g

6.5.3 Criterios de selección de la muestra

Criterio	Ratas				
Inclusión	Jóvenes machos de 12- 14 semanas de vida	Sanas	Con un peso de 280 a 330 g		

Exclusión	Con más de 14 semanas	Hembras	Enfermas	Con peso menor a 280 g	Con peso mayor a 400 g
Eliminación	Que mueran durante el procedimiento	Que aumenten de peso > 430 g	Que se auto inflijan lesiones		

Tabla 1. Criterios de selección de muestra.

6.5.4 Diseño y tipo de muestreo

No probabilístico

6.5.5 Tamaño de la muestra

54 Ratas Wistar machos

Tabla 2. Distribución de los modelos experimentales.

Grupo	Tratamiento	Número de ratas
1	25 µl de agua des ionizada a los 3 días	6 ratas
2	25 µl de agua des ionizada a los 8 días	6 ratas
3	25 µl de agua des ionizada a los 15 días	6 ratas
4	25 µl de extracto Cazahuate a los 3 días	6 ratas
5	25 µl de extracto Cazahuate a los 8 días	6 ratas
6	25 µl de extracto Cazahuate a los 15 días	6 ratas
7	25 µl de Dermatix a los 3 días	6 ratas
8	25 µl de Dermatix a los 8 días	6 ratas
9	25 µl de Dermatix a los 15 días	6 ratas
Total de ratas		54 ratas

6.6 **Definición de las variables y escalas de medición**

Tabla.3. Definición de las variables y escalas de medición.

Variable	Definición operacional
Extensión de la herida	Tamaño de la herida en mm^2

Inflamación	Presencia de células inflamatorias, Edema e Hiperemia
Regeneración de anexos	Presencia de Glándula sebácea Folículo piloso
Velocidad de regeneración	Reducción del tamaño de la herida en mm^2
Producción y disposición de colágeno	Concentración y dirección de las fibras

Observaciones:

La curación de las heridas y la administración del extracto acuoso en la dosis previamente especificada en la tabla y en un horario asignado.

La medición del progreso de la herida su cicatrización será constante.

Se obtuvo la biopsia de la herida designada para ver los cambios histomorfológicos los días 3, 8 y 15 respectivamente, posteriores a la realización de los cortes escisiónales**.**

6.7 Método de recolección de datos

Se recolectaron las medidas de las heridas todos los días mediante el uso de microscopio digital Celestron microdirect 1080HD, así como su software, y el programa Image J para la determinación de las áreas de cada herida; se usó el microscopio óptico LEICA CME para el análisis histomorfológico a un aumento de 4X, 10X y 40x con la tinción de Hematoxilina y Eosina, y con Tricrómica de Masson. Se usó el accesorio para microscopio Moticam 2300 para la toma de fotos para su reconstrucción y organización de los cortes histológicos de cada herida, así como el programa Image J para la cuantificación y diferenciación de fibras de colágeno.

6.8 Técnicas y procedimientos

6.8.1 Colecta de especímenes vegetales

Se lavó y se dejó secar cada espécimen días previos a su recolección, se realizaron cortes oblicuos (figura 16) en la corteza de 2-3 cm de profundidad aproximadamente, posteriormente se colocaron en bolsas negras de plástico grueso para evitar su exposición al sol y al medio ambiente, se trasportaron hasta el laboratorio de Fisiología Celular de la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para su procesamiento.

Figura 17. Imagen representativa de los cortes realizados en los troncos de los árboles para la extracción de la corteza.

La muestra se preparó mediante deshidratación con compresa en horno con calor seco a una temperatura de 45°C y después se dejó secar por 30 días sobre una mesa a temperatura ambiente en un lugar seco sin exposición directa a luz solar.

6.8.2 Preparación de la muestra orgánica

Se cepilló la corteza de *Ipomoea pauciflora* para retirar cualquier partícula que pudiera estar en contacto con el espécimen. Se esterilizó con luz UV. El material seco se pulverizó con un molino hasta obtener un polvo fino capaz de pasar por un microfiltro. Una vez obtenido el material filtrado se preservó en bolsas herméticas estériles y etiquetadas.

6.8.3 Preparación de los extractos acuosos mediante extracción asistida por microondas:

Se pesó 100 mg del material orgánico molido. Se colocó el material en un vial de cuello ancho de capacidad de 30 ml. Posteriormente, se agregó 10 mL de agua desionizada estéril al vial. Después se agregó una barra de agitación magnética. Se tapó el vial con un tapón de silicón. Se programó el equipo de microondas Anton Paar Monowave 300 a una temperatura de 190°C por 3 minutos a 600 rpm. Se inició el programa y se dejó continuar hasta finalizar la verificación para que no sobrepasara los valores máximos permitidos. Después se retiró el vial. Se destapó con cuidado y se extrajo la barra de agitación magnética. Se vertió la mezcla en un tubo para centrífuga estéril de 15 ml. Posteriormente, se centrifugó a 10,000 rpm durante 12 min a 27ºC. Se extrajo el sobrenadante y se filtró en condiciones de esterilidad por medio de un microfiltro de

0.22 µm. Se colocó en un tubo falcón estéril y se selló con microfilm para ser almacenado a 4°C.

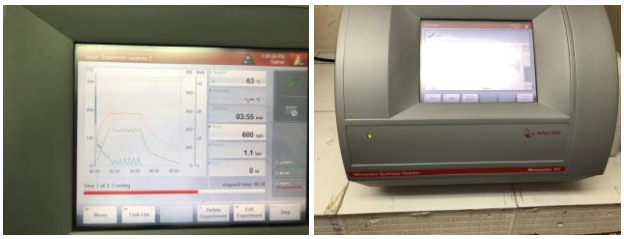


Figura 18. Respresentación del equipo para extracion por microondas así como su programación.

6.8.4 Cirugía

6.8.4.1 Preoperatorio:

Se pesaron los animales en una balanza analítica para calcular la dosis de anestesia. Antes de la cirugía se anestesió cada espécimen (Xilacina 8mg/kg + Ketamina 70mg/kg) y se procedió a la tricotomía.

6.8.4.2 Transoperatorio

Se realizó el marcaje de la zona a biopsiar y la antisepsia con yodopovidona y se procedió a realizar el corte.

6.8.4.2.1 Descripción de la técnica quirúrgica

El procedimiento se realizó con estrictas medidas de esterilidad tanto de las áreas en las que se desarrolló como en el personal que la practicó. El procedimiento quirúrgico se realizó en una campana de flujo laminar previamente esterilizada con UV y campos quirúrgicos estériles. Para la obtención del tejido se realizó por medio de una biopsia por escisión, la zona de tejido fue el dorso de la rata, donde se le impide tener acceso a esta para evitar autolesiones, sobre líneas de menor tensión en piel; utilizando un bisturí de mango #3 con hoja del #15, tomando el mango de forma en la que se toma un bolígrafo, se incidió en uno de los ángulos de la forma marcada con la punta del bisturí en un ángulo de 90° hasta lograr la profundidad deseada , luego con el bisturí en un ángulo de 45°se realizó el corte siguiendo el marcaje realizado previamente, hasta extraer el fragmento de piel, manteniendo el bisturí perpendicular para que el corte fuera definido y permitir un cierre fácil y una cicatrización adecuada.

Posteriormente, el tejido se introdujo en una sustancia de formol al 10% para evitar alguna modificación del tejido para después ser llevado a patología para su inclusión en parafina, su tinción y realizar las observaciones microscópicas.

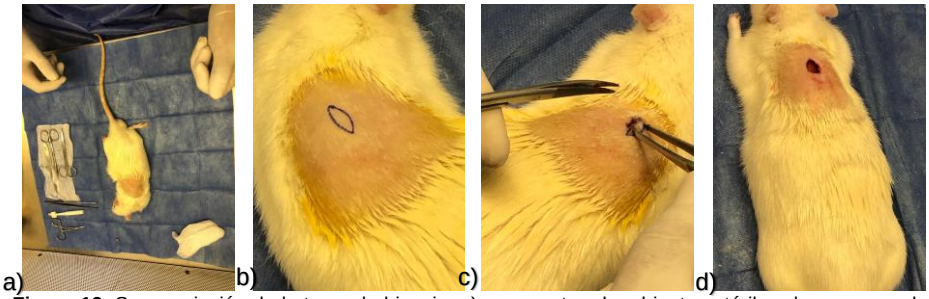


Figura 19. Secuenciación de la toma de biopsia, a) se muestra el ambiente estéril en la campana de flujo laminar, b) se observa el marcaje a extraer en el lomo del animal, c) realización del corte, d) apariencia de la herida después de la toma de biopsia.

6.8.4.3 Post – operatorio:

Preparación del área de recuperación (esterilización previa de la cama del animal).

Control de temperatura (prevención de hipotermia) con la ayuda de la luz de una bombilla eléctrica de 60 watts a una distancia de aproximada de 60 cm. La vigilancia en la recuperación del anestésico con la valoración subsecuente del estado general. La administración subsecuente de analgésico Tramadol a una dosis de 5mg/kg vía intraperitoneal (IP).

Administración de antibiótico Enroxil al 5%IP a una dosis de 7.5mg/kg de su peso. Los animales se mantuvieron *ad libitum*. El seguimiento de la cicatrización de la herida fue por 15 días.

6.8.5 Análisis estadístico

Para las variables cuantitativas se obtuvieron las medias y desviaciones estándar de cada grupo de ratas. El análisis se realizó con el software SPSS. Para comparar la diferencia entre los grupos se utilizó la prueba ANOVA y posteriormente pruebas post hoc de Tukey para comparaciones contra el control y entre grupos respectivamente. Los hallazgos se consideraron con una significancia de $p < 0.05$.

6.9 Diseño estadístico

Muestreo a conveniencia

7. Resultados

Se recolectaron las medidas de las heridas todos los días mediante el uso de microscopio digital Celestron microdirect 1080HD, así como su software, y el programa Image J para la determinación de las áreas de cada herida, al analizar los cambios suscitados en este lapso se pueden observar el desarrollo de la cicatrización por segunda intención desde el día 0 al día 15 demostrando la actividad procicatrizante de *Ipomoea pauciflora.* Se seleccionaron 15 heridas al azar de cada grupo para su análisis y se llevó su seguimiento durante 15 días y se realizó un registro macro y microscópico describiéndose continuación:

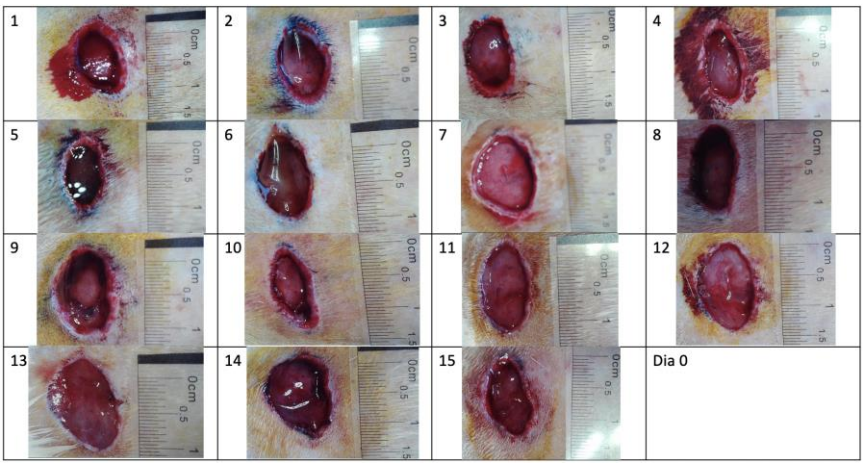


Figura 20. Heridas realizadas el día de la biopsia. 1, 2, 3 pertenecen al grupo control negativo, 4-9 pertenecen al grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora*, 10-15 pertenecen al grupo control positivo.

Se observaron las heridas realizadas en cada uno de los especímenes de tamaño similar a 15x10mm, ubicándose todas en el dorso de la rata, se observaron bordes definidos, heridas frescas con secreción de hemática a serohemática, sin eritema ni inflamación, indicando que inicia la fase de hemostasia para dar continuidad con la fase de inflamación.

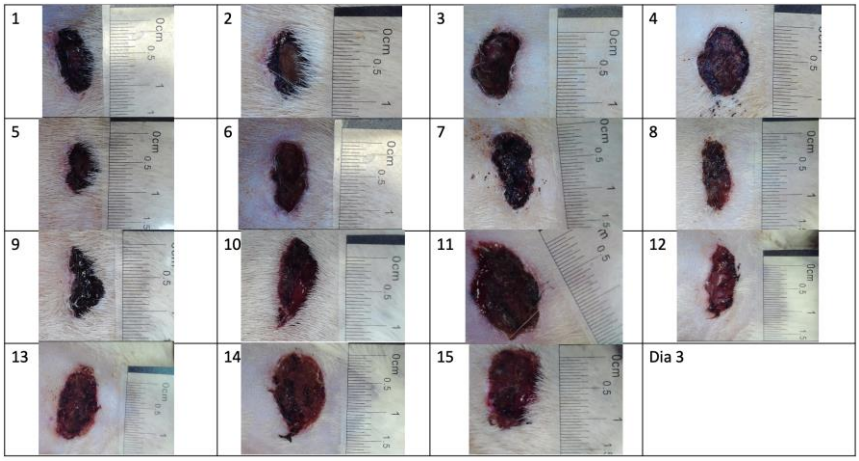


Figura 21. Heridas a los 3 días de la biopsia. 1, 2, 3 pertenecen al grupo control negativo, 4-9 pertenecen al grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora*, 10-15 pertenecen al grupo control positivo.

Se observaron las heridas seleccionadas a los 3 días, en las heridas pertenecientes al grupo control negativo se pudo observar la herida deshidratada con formación de costra en bordes, centro limpio y brilloso sin secreciones, se observó eritema y ligera inflamación en los bordes de la herida, en el grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* se observó mayor formación de costra en los individuos 7 y 9 en comparación con el resto de los especímenes se encontró retracción de la herida en especímenes 8 y 9 por plegamiento de la costra, hay presencia de eritema en borde de las heridas en espécimen 5 y 6, no se observan datos de inflamación activa, no presentan secreciones ninguno de los individuos de este grupo, lo que nos indica que ya ha pasado la primera fase de la cicatrización correspondiente a la inflamación, y se encuentran en la fase proliferativa, el grupo control positivo presentó heridas eritematosas brillantes sin formación activa de costra en la mayoría de los especímenes, encontrándose eritema e inflamación en los bordes de la herida y se observan lesiones autoinfligidas en cercanía de la lesión, sin secreciones dándonos a entender que aún se encuentra en la primera fase de la cicatrización.

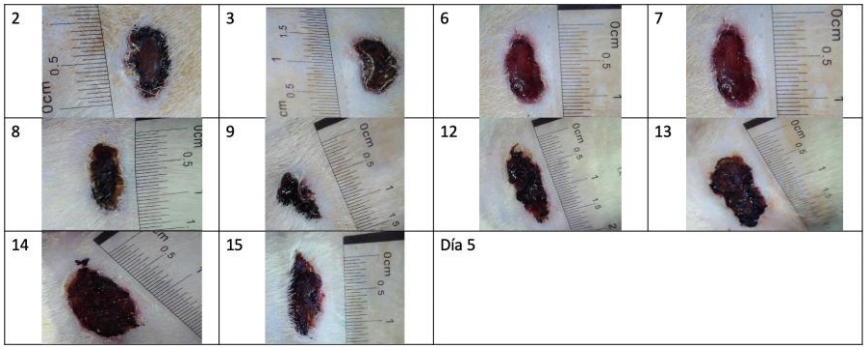


Figura 22. Heridas a los 5 días de la biopsia. 2 y 3 pertenecen al grupo control negativo, 6-9 pertenecen al grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora*, 12-15 pertenecen al grupo control positivo.

Se observaron las heridas seleccionadas a los 5 días post toma de biopsia, en las heridas pertenecientes al grupo control negativo se pudo observar la herida deshidratada con formación de costra en bordes de forma irregular, centro limpio y brilloso sin secreciones, sin eritema y ligera inflamación en los bordes de la herida, los cuales están de forma irregular y se observan signos de desprendimiento de costra indicando que han finalizado la etapa de inflamación y se encontraba iniciando la segunda etapa de la cicatrización; en el grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* no se observó costra debido a autolesión y desprendieron la costra, se observa lesión eritematosa brillante limpia, sin secreciones, ligero edema y eritema en bordes de la herida, resto de las lesiones de este grupo se encontró disminución en el tamaño de la costra, seca color pardo, con desprendimiento en los bordes deshidratados, sin secreciones ni eritema, con un ligero incremento en el volumen en la zona de la herida, así como disminución en el tamaño claramente observado en los especímenes 8 y 9, lo que nos habla de que se encontraba en la fase final de proliferación y que en comparación con las heridas de días previos se ha mantenido controlada sin una reacción exagerada, con una maduración activa, el grupo control positivo presentó heridas con costra irregular, aumento de volumen en el centro de la herida, eritema en los bordes sin secreciones con lesiones por rasguño en la periferia de la herida, dándonos a entender que inició la fase proliferativa, pero con persistencia de la inflamación, se observó disminución en el tamaño en los sujetos 12 y 15 lo que sugiere que estaban iniciando la fase final de la proliferación celular.

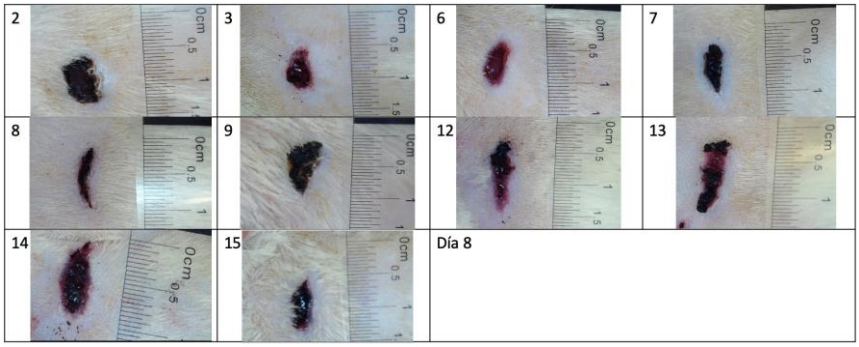


Figura 23. Heridas a los 8 días de la biopsia. 2 y 3 pertenecen al grupo control negativo, 6-9 pertenecen al grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora*, 12-15 pertenecen al grupo control positivo.

Se observaron las heridas seleccionadas a los 8 días posteriores a la toma de biopsia, en el grupo control negativo se pudo observar en el espécimen 2 la herida deshidratada, costra en bordes de forma irregular, sin secreciones, sin eritema y con signos de desprendimiento de costra y disminución de su tamaño; en el individuo 3 hay desprendimiento de costra por autolesión, bordes eritematosos, centro con edema y secreción serohemática y disminución del tamaño de la herida lo que nos indicó que se encontraba en la parte final de la fase de proliferación; en el grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* en el espécimen 6 no se observó costra debido a autolesión y desprendieron la costra, se encontró lesión eritematosa brillante y limpia, sin secreciones, sin edema y eritema en bordes de la herida, espécimen 8 presentó disminución importante en el tamaño de la herida con costra sin secreciones ni eritema en bordes de la herida, resto de las lesiones de este grupo se observó disminución en el tamaño de la costra, seca color pardo, con desprendimiento en los bordes deshidratados, sin secreciones ni eritema, lo que nos habla de que continúa en la fase final de proliferación con una maduración activa del tejido, el grupo control positivo presentó heridas con costra irregular, con disminución en el tamaño de la costra, eritema en los bordes sin secreciones con lesiones por rasguño en el centro herida dándonos a entender que continúaba en fase proliferativa.

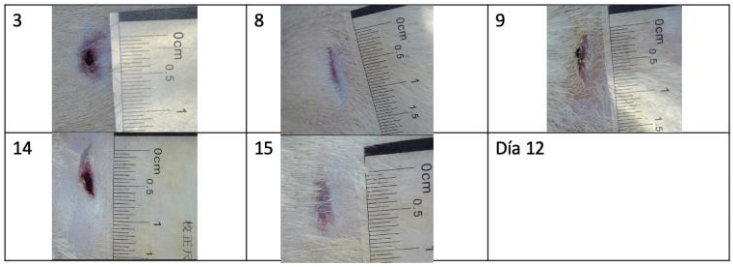


Figura 24. Heridas a los 12 días de la biopsia. 3 pertenece al grupo control negativo, 8 y 9 pertenecen al grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora*, 14 y 15 pertenecen al grupo control positivo**.**

Se observaron las heridas seleccionadas a los 12 días posteriores a la toma de biopsia, en el grupo control negativo se pudo observar la herida deshidratada, costra en centro de la herida, en bordes de forma irregular con presencia de eritema, sin secreciones y disminución de su tamaño, lo que nos indicó que se encontraba en la parte final de la fase de proliferación; en el grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* el espécimen 8 presentó disminución importante en el tamaño de la herida sin costra, no presenta secreciones o eritema en bordes de la herida, espécimen 9 mostraó una pequeña costra céntrica deshidratada sin secreciones ni eritema en bordes de la herida, con una disminución importante en el tamaño de la costra, lo que nos habla de que finalizó la proliferación y entró en la fase de remodelación con una maduración activa del tejido, el grupo control positivo el espécimen 14 presentó secreción hemática céntrica por desprendimiento de costra con disminución en el tamaño de la herida, sin eritema en los bordes; espécimen 15 mostró lesión sin costra con eritema en borde inferior con hiperpigmentación en la zona afectada, sin eritema ni secreciones, lo que nos habla de que se encontraba en la parte final de la proliferación con una maduración activa del tejido próximo a entrar a la fase de remodelación.

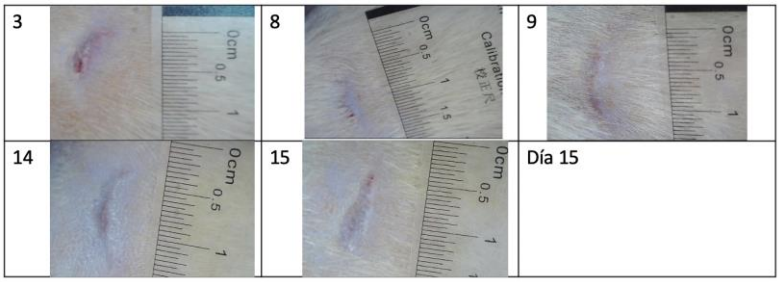


Figura 25. Heridas a los 15 días de la biopsia. 3 pertenece al grupo control negativo, 8 y 9 pertenecen al grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora*, 14 y 15 pertenecen al grupo control positivo.

Se observaron las heridas seleccionadas a los 15 días posteriores a la toma de biopsia, en el grupo control negativo se pudo observar la herida deshidratada sin presencia costra, en bordes de forma irregular con eritema, centro de la herida en descamación sin secreciones, y disminución de su tamaño, lo que nos indicó que se encontraba iniciando la fase de remodelación; en el grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* espécimen 8 presentó disminución importante en el tamaño de la herida sin costra, sin presencia de secreciones o eritema en bordes de la herida de características similares a la piel de la periferia, ligera hiperpigmentación al centro de la herida, espécimen 9 mostró zona de la lesión deshidratada sin secreciones ni eritema en bordes de la herida con una disminución importante de tamaño ligera hiperpigmentación con características similares a la piel de la periferia, lo que nos habla que se encontraba en una fase final de remodelación, el grupo control positivo mostró lesión sin costra, ligero eritema en borde de la lesión sin secreciones, aumento en el volumen de los bordes con aspecto fibroso e hiperpigmentación media con características similares a la piel de la periferia, lo que nos habla de que se encontraba en la parte final de la fase de remodelación.

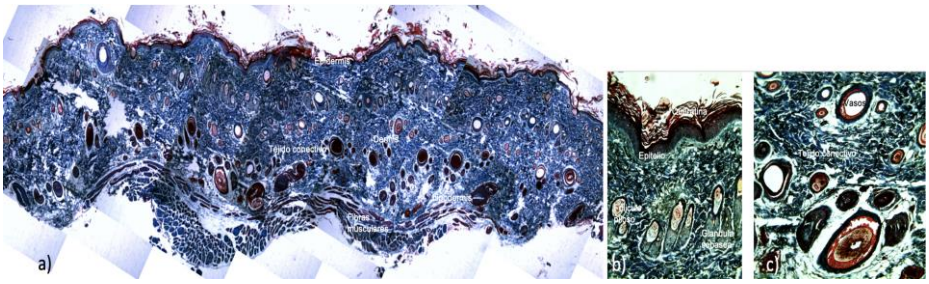


Figura 26. Corte histológico del tejido original previo a la biopsia a) corte reconstruido a 4X con tinción de Masson, b) y c) corte a 10X tinción de Masson en la que se observa epitelio plano hiperqueratinizado, haces musculares, glándulas cebáceas, presencia folículos pilosos, vasos de pequeño y mediano calibre, sin infiltrados celulares, órganos linfoides secretores no reproductivos.

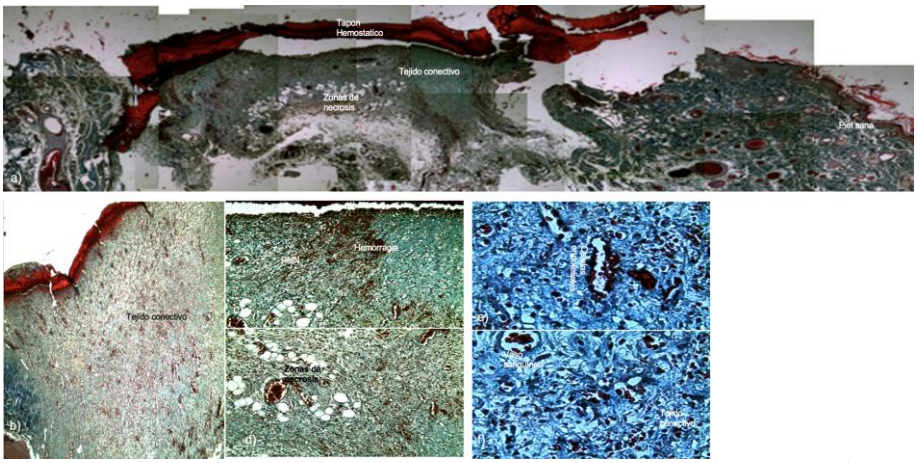


Figura 27. Corte histológico del tejido del grupo 1 (control negativo) a los 3 días post escisiónales a) reconstruido y b) fragmento a 4X con tinción de Masson, c) y d) segmentos a 10X y e y f) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa pérdida de la arquitectura por hemorragia e infiltrado y zonas de necrosis, eritrocitos extravasados, degradación y ruptura de vasos, angiogénesis (++) vasos pequeño y mediano calibre, infiltrado celular por linfocitos, macrófagos y eritrocitos (+++), tejido conectivo laxo, se observa la zona de ulceración y formación de costra, evidenciando la transición de la fase inflamatoria a la proliferativa con la moderada generación de nuevos vasos así como el cambio de neutrofilos por macrófagos y linfocitos.

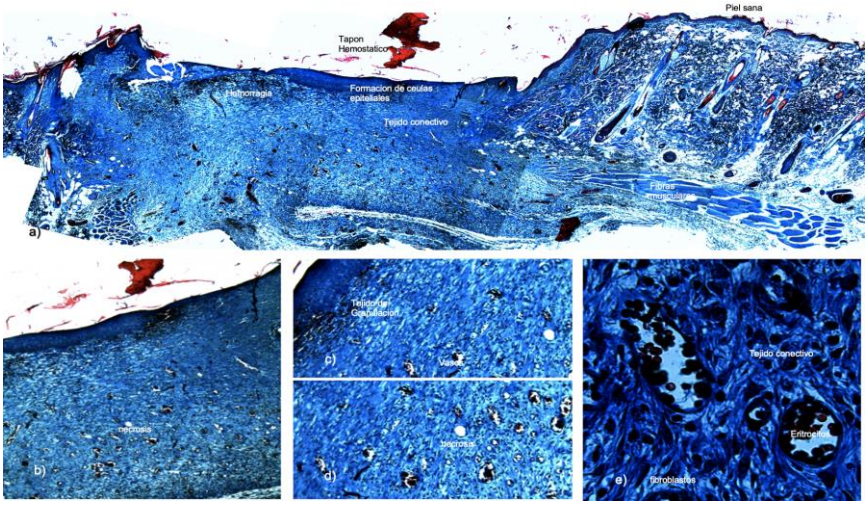


Figura 28. Corte histológico del tejido del grupo control negativo a los 8 días. a) reconstruido y b) fragmento a 4x, c) y d) segmentos a 10x, e) segmento a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa pérdida de continuidad con formación de costra, tejido de granulación (++), angiogénesis (+) vasos de mediano y pequeño calibre, tejido conectivo desorganizado laxo (+++), células inflamatorias (++) con predominio linfocitario eritrocitos (++), mostrando la fase proliferativa como predominante, se encuentran disminuidas las células inflamtorias de predominio linfocitario, y se observan abundantes fibroblastos activos con secreción de colágeno.

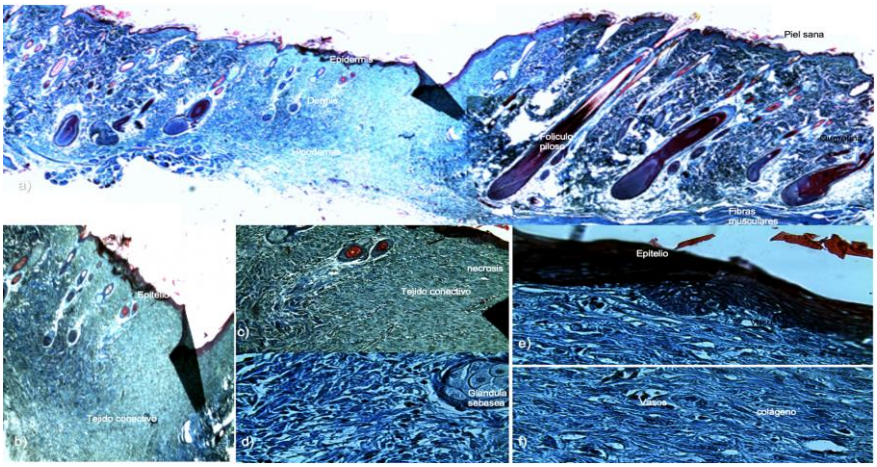


Figura 29 Corte histológico del tejido del grupo control negativo a los 15 días a) reconstruido y b) segmento a 4x, c) segmento a 10x y d), e) y f) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa tejido conectivo laxo desorganizado, tejido fibroso (++), infiltrado (+++), angiogénesis (+) vasos de pequeño calibre, hemorragia (+) transición de tejido desorganizado laxo, epitelio delgado de 2-6 capas sin queratina, observándose el fin de la fase proliferativa y la activa remodelación del tejido conectivo, se encuentran menor número de fibroblastos activos en el tejido, así como la involución de vasos formados se aprecia las fibras de colágeno laxas y desorganizadas.

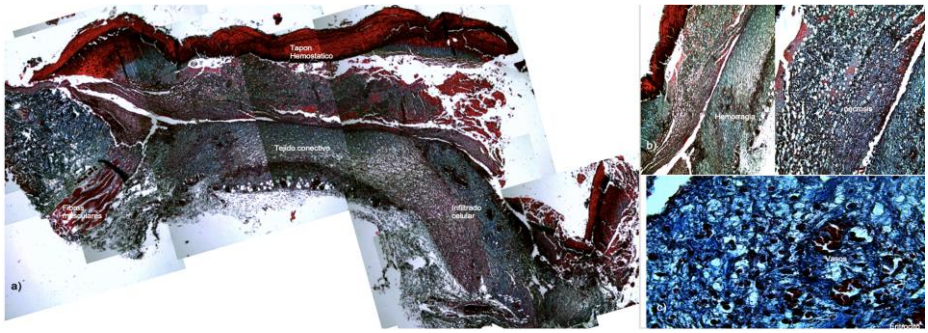


Figura 30. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 3 días a) reconstruido a 4X, b) segmento a 10X y c) segmento a 40x con tinción Tricrómico de Masson en las que se observa tejido de granulación, extravasación del daño a la periferia, pérdida de continuidad presencia de coágulo acelular que retrasa la regeneración, infiltrado inflamatorio (++), tejido conectivo laxo y desorganizado (+), hemorragia reciente eritrocitos (+++) , fibras musculares, neovascularización (++) vasos de pequeño calibre, se observa la transición de la fase inflamatoria a proliferativa con la moderada generación de nuevos vasos así como la presencia de células inflamatorias de tipo linfocitario, y fibroblastos activos con secreción de colágeno.

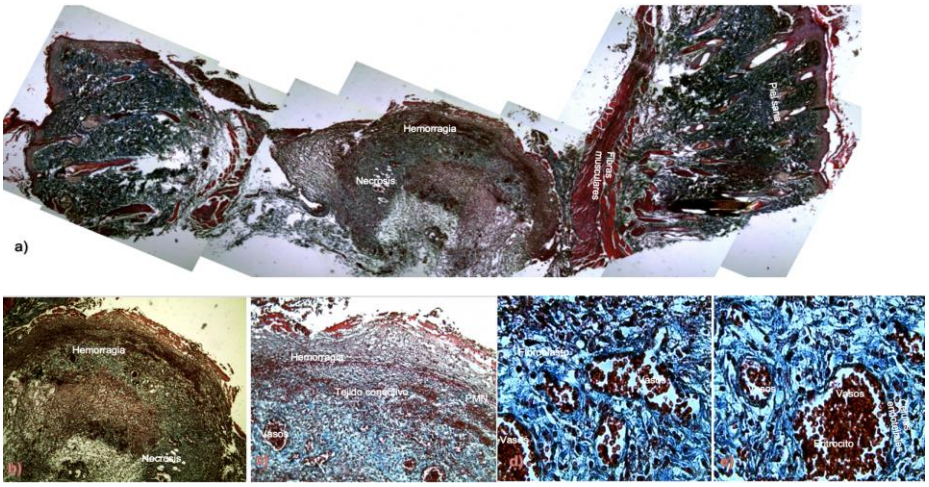


Figura 31. Corte histológico del tejido grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 3 días a) reconstruido, b) segmento a 4x, b) segmento a 10X y, c) y d) a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa pérdida de continuidad, abundante hemorragia, úlcera activa, zonas de necrosis (++), tejido conectivo laxo (++) con infiltrado leucocitario (+) eritrocitos activos extravasados (++), neovascularización (++) vasos de pequeño y mediano calibre (++) fibroblastos activos sintetizando colágeno (++) se aprecia la transición de la fase inflamatoria a proliferativa con la generación de nuevos vasos, predominio de células inflamatorias de tipo linfocitario, fibroblastos activos con secreción de colágeno.

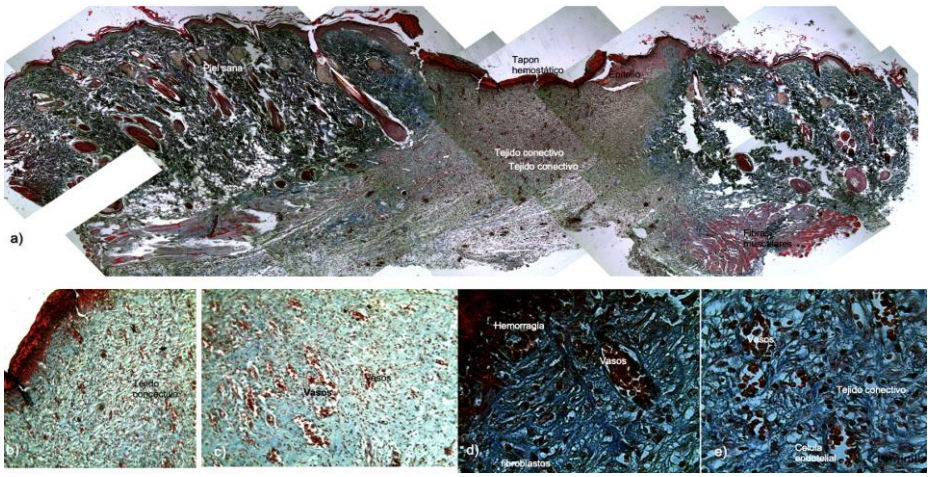


Figura 32. Corte histológico del tejido grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 8 días a) reconstruido, b) segmento a 4x, c) segmento a 10x, d) y e) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa perdida de continuidad con formación de costra que retrasa la regeneración celular tejido de granulación (++), angiogenesis (+++), vasos de pequeño y mediano calibre, tejido conectivo denso desorganizado (+), infiltrado (0/+) solo de reparación, eritrocitos en vasos, fibroblastos activos con síntesis de colágeno (++), epitelio formando fibrina, por lo que se puede intuir que se encuentra en la reepitelización de la fase proliferativa.

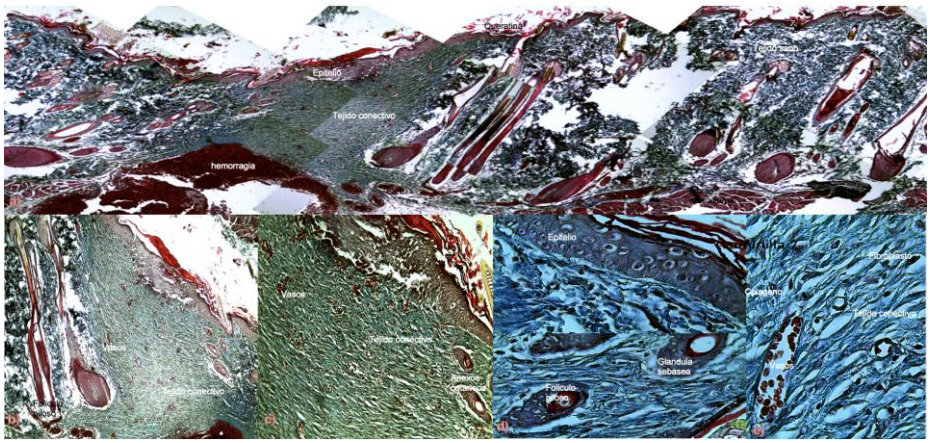


Figura 33. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los 8 días, a) reconstruido, b) segmento a 4x, c) segmento a 10x, d) y e) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa zona de hemorragia extensa, infiltrado (+), tejido de granulación (++), angiogénesis (++), vasos de pequeño, mediano y gran calibre, ruptura de vasos, transición de tejido conectivo denso (++) desorganizado, eritrocitos en vasos, epitelio con 4-6 capas sin queratina, entendiendo que se encuentra en la parte final de la reepitelización de la fase proliferativa y maduración del tejido así como de remodelación.

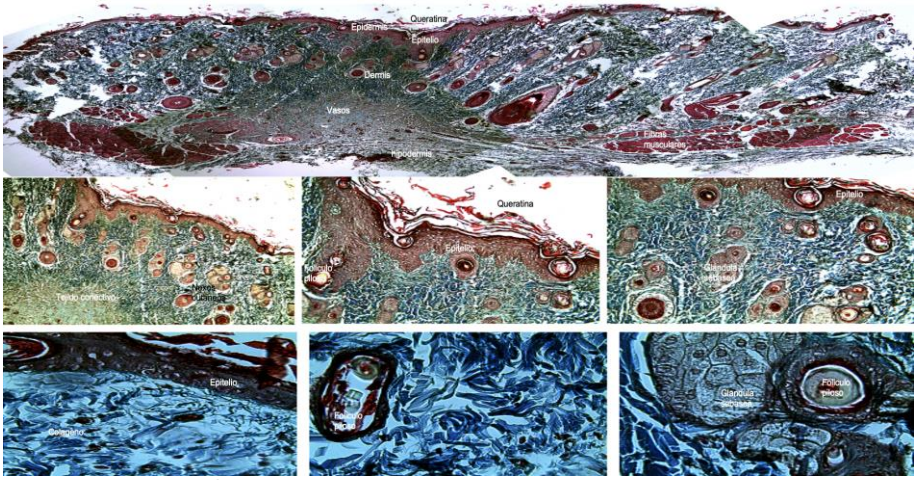


Figura 34. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los15 días, a) reconstruido, b) segmento a 4x, c) y d) segmentos a 10x, e), f) y g) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se vasos de pequeño, mediano y gran calibre, tejido conectivo denso organizado (+++), maduración de muchos folículos pilosos y glándulas sebáceas (++/+++) reparación completa, epitelio íntegro con formación de queratina y haz muscular, por lo que se encuentra en la fase de remodelación con maduración del tejido.

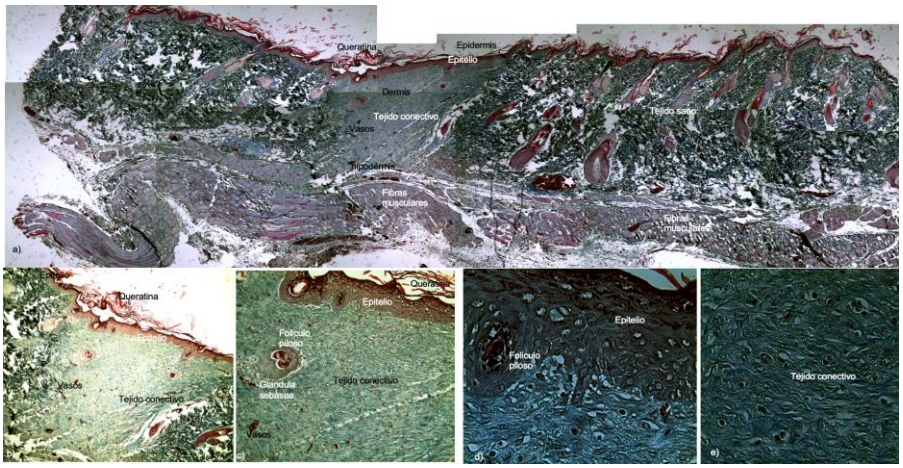


Figura 35. Corte histológico del tejido del grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* a los15 días, a) reconstruido, b) segmento a 4x, c) segmento a 10x y d) y e) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que no se observa lesión, hay reparación completa, tejido conectivo organizado denso (+++) vasos pequeño y mediano calibre (+), infiltrado (0), folículos pilosos y glándulas sebáceas en maduración (0/+), epitelio íntegro con queratinización por lo que se entiende que se encuentra en la última fase de la cicatrización, con maduración del tejido**.**

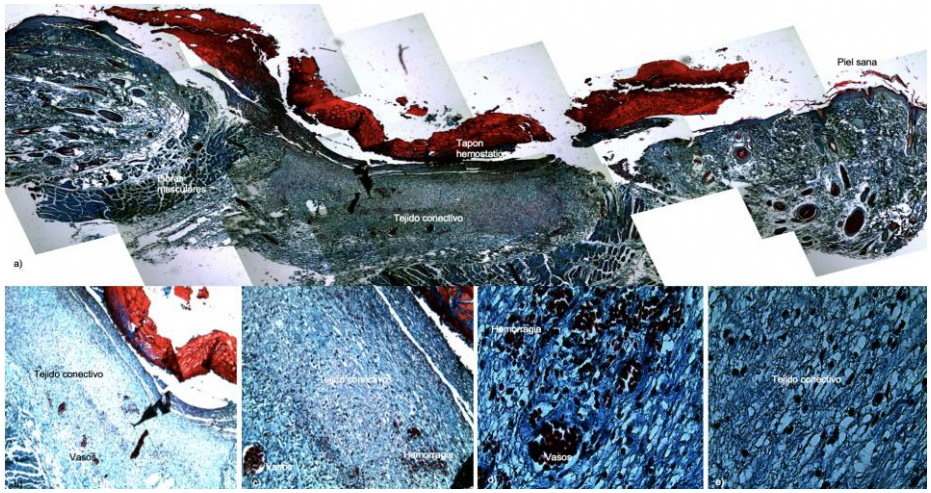


Figura 36. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 3 días; a) reconstruido, b) segmento a 4x, c) segmento a 10x y, d) y c) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa pérdida de la arquitectura con tapón hemorrágico, zona de ulceración, infiltrado inflamatorio (++) y zonas de necrosis (+), eritrocitos extravasados, angiogénesis de vasos de pequeño y mediano calibre (+), se observa abundante tejido de granulación, tejido conectivo laxo (+) fibroblastos muy activos (++), observándose transición de la fase inflamatoria a proliferativa con el cambio de células polimorfonucleares a linfocitos, y la activación de fibroblastos para la síntesis de colágeno.

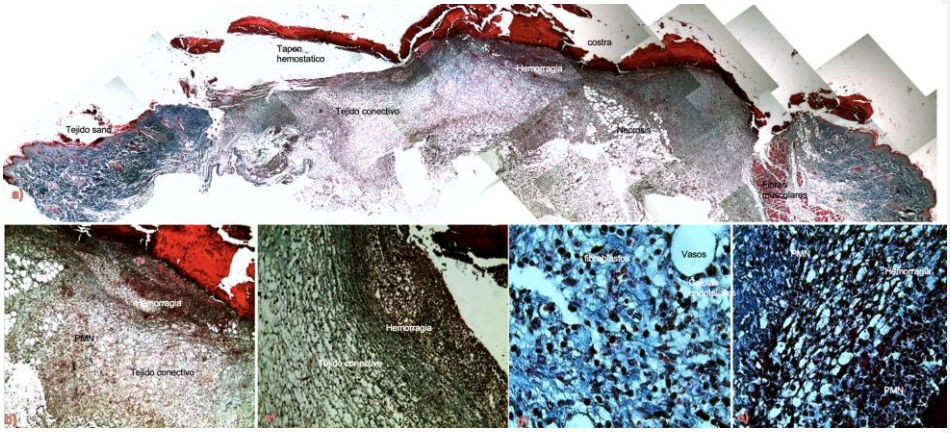


Figura 37. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 3 días; a) reconstruido b) segmento a 4x, c) segmento a 10x y, d) y e) segmentos con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa la zona de ulceración y formación de costra, infiltrado inflamatorio (+++) y abundantes zonas de necrosis (++), eritrocitos extravasados (++), angiogénesis de vasos de pequeño y mediano calibre (++), se observa abundante tejido de granulación, tejido conectivo laxo (++), se aprecia la fase inflamatoria con una exagerada respuesta por parte de polimorfonucleares secundaria a diversas hemorragias y abundantes zonas de necrosis encontradas en el tejido.

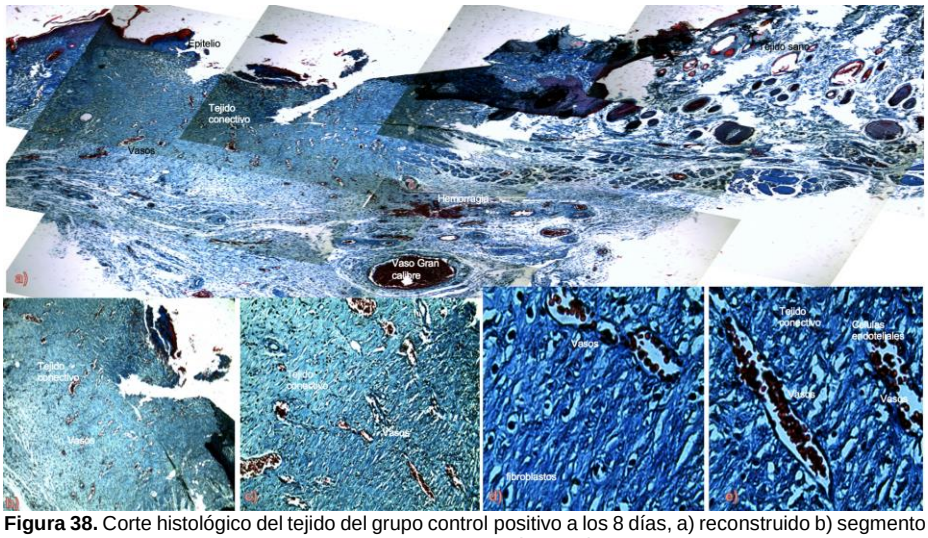


Figura 38. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 8 días, a) reconstruido b) segmento a 4x, c) segmento a 10x, d) y e) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa pérdida de continuidad zona ulcerativa con zonas de necrosis acelular licuefactivas, angiogénesis (+++) vasos de grande, mediano y pequeño calibre, tejido de granulación (++) tejido conectivo laxo organizado (++), tejido inflamatorio (+), eritrocitos en vasos(++), zonas hemorrágicas y fibroblastos activos, por lo que se puede clasificar en la parte media de la fase proliferativa.

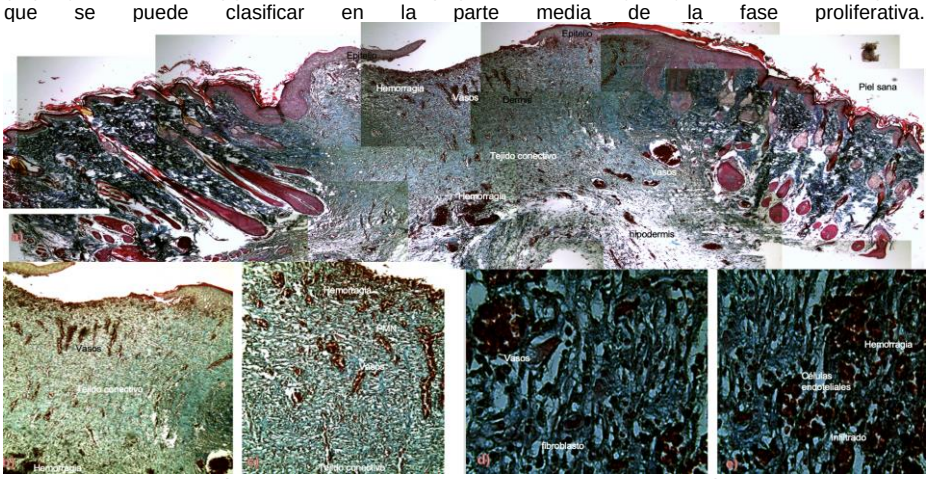


Figura 39. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 8 días, a) reconstruido, b) segmento a 4x, c) segmento a 10x y, d) y e) a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa perdida de continuidad con formación de costra, angiogénesis (+++), vasos pequeño, mediano y gran calibre, fibroblastos (+++), tejido conectivo laxo y denso (++), tejido granulación (+++), infiltrado (++), zonas hemorrágicas, eritrocitos en vasos y extravasados con predominio en vasos, zonas de necrosis, células de epitelio agrupadas para su formación, observándose una acelerada actividad de los fibroblastos en la etapa proliferativa.

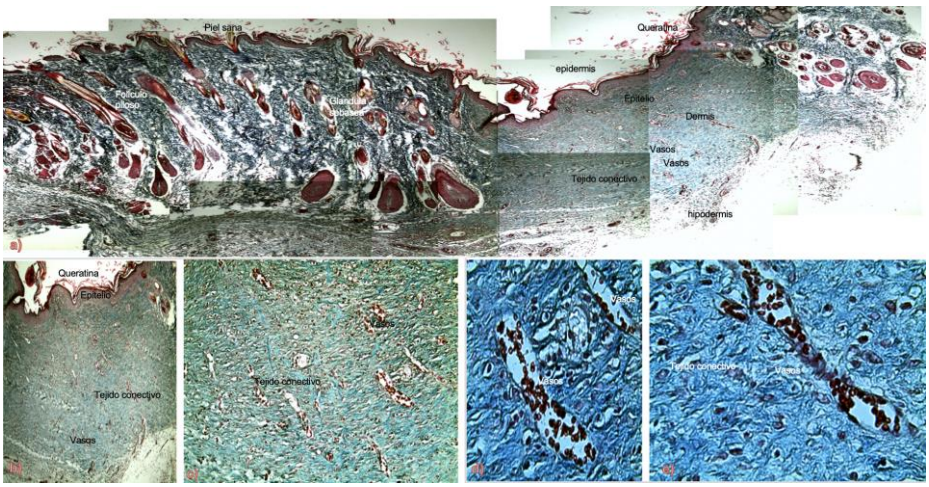


Figura 40. Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 15 días, a) reconstruido, b) segmento a 4x, c) segmento a 10x y, d) y e) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que no se observa tejido en reparación, vasos de pequeño calibre, fibroblastos activos (+), tejido inflamatorio (0/+), tejido conectivo laxo organizado (++), reparación completa epitelio íntegro con formación de queratina sin anexos, lo que nos indica que se encuentra en la fase de remodelación con moderada actividad de maduración del tejido.

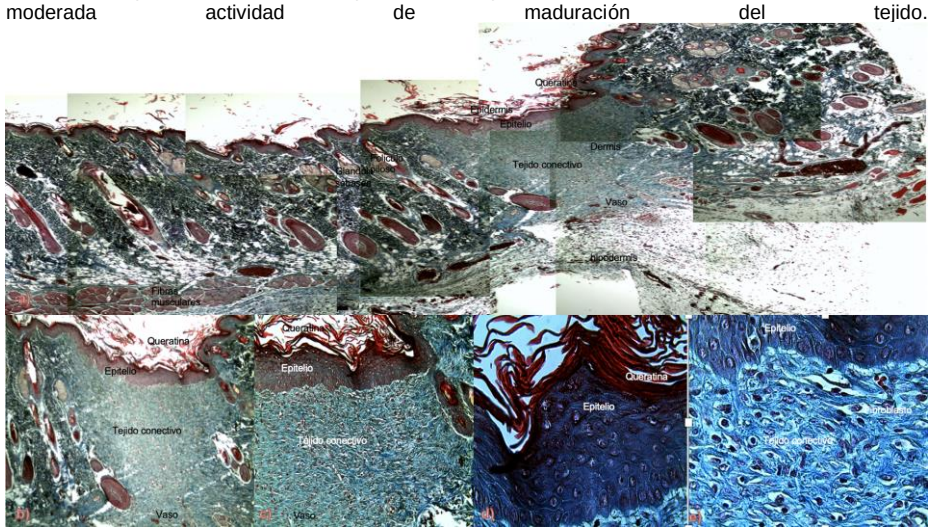


Figura 41 Corte histológico del tejido del grupo control positivo a los 15 días, a) reconstruido y b) segmento a 4x, c) segmento a 10x y, d) y e) segmentos a 40x con tinción Tricrómico de Masson en la que se observa tejido conectivo denso (++/+++), angiogénesis (+), vasos de pequeño calibre, infiltrado (0/+), epitelio integro bien organizado con queratinización sin anexos, lo que indica que se encuentra en la última fase de la remodelación tisular con una buena maduración del tejido.

Massón										
	Colageno							Anexos		
Especimen	Tejido fibroso	Paralela	Desorganizado	TFC Denso	TFC Laxo	Ulcera	Costra	F.P.	G.S.	Observaciones
Control tejido original L0	++++	++++	0	++++	0	0	0	++++	++++	Se observa epitelio plano hiperqueratinizado, haces musculares, glandulas cebaceas, precencia foliculos pilosos, fibras de colageno denso organizado, vasos de pequeño y mediano calibre, sin infiltrados celulares, organos linfodes secretores no reproductivo
Grupo 1 control negativo día 3 L1	0	0	+	0	+	+++	0	0	0	Perdida de la arquitectura por hemorragía e infiltrado y zonas de necrosis, eritrocitos extravasados, degradacion y ruptura de vasos, angiogenesis (++) vasos pequeño y mediano calibre, infiltrado celular por linfocitos, Macrofagos y eritrocitos (+++), Tejido conectivo (T.C.) laxo , se observa la zona de ulceracion y formacion de costra
Grupo 2 control negativo día 8 L2	0		++	0	+++	++	++	0	0	Perdida de continuidad con formacion de costra, tejido de granulacion (++), angiogenesis (+) vasos de mediano y pequeño calibre, tejido conectivo desorganizado laxo (+++), celulas inflamatorias (++) con predominio linfocitario y eritrocitos (++).
Grupo 3 control negativo día 15 L3	++	0	+++	+	+++	0	0	0	0	Transicion de tejido conectivo desorganizado laxo, tejido fibroso (++), infiltrado (++), angiogenesis (+) vasos pequeño caibre, hemorragia (+) epitelio delgado de 2-6 capas sin queratina
Grupo 4 extracto acuoso czh día 3 L4	0	0	+	0	+	++	+++	0	0	Tejido de granulacion, extravasacion del daño a la periferia, perdida de continuidad presencia de coagulo acelular que retrasa la regeneracion, infiltrado inflamatorio (++), T.C. laxo y desorganizado (+), hemorragía reciente eritrocitos (+++) , fibras musculares, neovascularización (++) vasos de pequeño calibre.
Grupo 4 extracto acuoso czh día 3 L5	0	0	++	0	++	++	++	0	0	Perdida de continuidad, abundante hemorragia, ulcera activa, T.C laxo (++) con infiltrado leucocitario (+) eritrocitos activos extravasados (++), neovascularización(++) vasos de pequeño y mediano calibre(++) fibroblastos activos sintetizando colageno(++).
Grupo 5 extracto acuoso czh día 8 L6	0	0	+	+	++	+	++	0	0	Perdida de continuidad con formación de costra que retrasa la regeneración celular tejido de granulacion (++)angiogenesis (+++) vasos de pequeño y mediano calibre, tejido conectivo denso desorganizado (+), infiltrado (0/+) solo de reparacion, eritrocitos en vasos, fibroblastos activos con sintesis de colageno (++), epitelio formando fibrina.
Grupo 5 extracto acuoso czh día 8 L7	0	0	+	++	+	0	0	0	0	Zona de hemorragia extensa, infiltrado (+) tejido de granulacion (++), angiogenesis (++) vasos de pequeño,mediano y gran calibre, ruptura de vasos, transición de tejido conectivo denso (++) desorganizadoeritrocitos en vasos, epitelio e 4-6 capas sin queratina
Grupo 6 extracto acuoso czh día 15 L8	0	+++	0	+++	0	0	0	++	++++	Angiogenesis (+) vasos de pequeño, mediano y gran calibre, Tejido conectivo denso organizado (+++), maduración de muchos foliculos pilosos y glandulas cebaceas(++/+++) reparacion completa epitelio integro con formacion de queratina Haz muscular.
Grupo 6 extracto acuoso czh día 15 L9	0	+++	+	++	+	0	0	+	+	No se obseva lesion, reparacion completa, tejido conectivo organizado denso (++/+++) vasos pequeño y mediano calibre (+), infiltado (0), foliculos pilosos y glandulas cebaceas en maduración, epitelio integro con queratinización.
Grupo 7 control positivo Dmtx día 3 L10	0	0	+	0	++	++	+++	0	0	Se observa la zona de ulceracion y formacion de costra, perdida de la arquitectura con tapon hemorragico, infiltrado inflamatorio (++) y zonas de necrosis, eritrocitos extravasados, angiogenesis de vasos de pequeño y mediano calibre (+), se observa abundante tejido de granulacion, tejido conectivo muy laxo(+) y fibroblastos muy activos.
Grupo 7 control positivo Dmtx día 3 L11	0	0	+	0	++	++	++	0	0	Se observa la zona de ulceracion y formacion de costra, perdida de la arquitectura con tapon hemorragico, infiltrado inflamatorio (+++) y zonas de necrosis, eritrocitos extravasados (++), angiogenesis de vasos de pequeño y mediano calibre (++), se observa abundante tejido de granulacion, tejido conectivo muy laxo(++).
Grupo 8 control positivo Dmtx día 8 L12	0	0	++	+	++	+	0	0	0	Perdida de continuidad zona ulcerativa con zonas de necrosis acelular licuefactivas, angiogenesis (+++) vasos de grande, mediano y pequeño calibre, tejido de granulación (++) tejido conectivo laxo organizado(++) tejido inflamatorio (+), eritrocitos en vasos(++) y zonas hemorragicas, fibroblastos activos.
Grupo 8 control positivo Dmtx día 8 L13	0	0	+	++	++	0	0	0	0	Perdida de continuidad con formacion de costra angiogenesis (+++)vasos pequeño, mediano y gran calibre, fibroblastos (+++), TC laxo y denso(++) tejido granulación(+++), infiltrado (++), zonas hemorragicas eritrocitos en vasos y extravasados con predominio dentro de vasos, zonas de necrosis, celulas de epitelio agrupadas para su formacion
Grupo 9 control positivo Dmtx día 15 L14	+	++	+	++	+	0	0	0	0	No se observa tejido en reparacion, vasos de pequeño calibre, fibroblastos activos, tejido inflamatorio (0/+) tejido conectivo laxo organizado(++) reparacion completa epitelio integro con formacion de queratina sin anexos.
Grupo 9 control positivo Dmtx día 15 L15	0	+++	0	+++	0	0	0	0	0	Tejido conectivo denso (+++) angiogenesis (+) vasos de pequeño calibre, infiltrado (0/+) epitelio integro bien organizado con queratinizacion sin anexos

Tabla 4. Se agrupan las características de las 15 laminillas seleccionadas al azar para su análisis.

Al analizar los cortes histológicos podemos encontrar una reepitelización con mayor semejanza al tejido original con el extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* después de la cicatrización por segunda intención al encontrarse fibras de colágeno denso de forma paralela y organizada, resaltando la presencia de abundantes anexos cutáneos en comparación con los controles y la reducción de respuesta inflamatoria en los primeros días del proceso de cicatrización.

8. Análisis estadístico de resultados

Se tomó una base de datos de 54 sujetos para el análisis en los que se observó la disminución del tamaño de los tres grupos experimentales en diferentes días de medición.

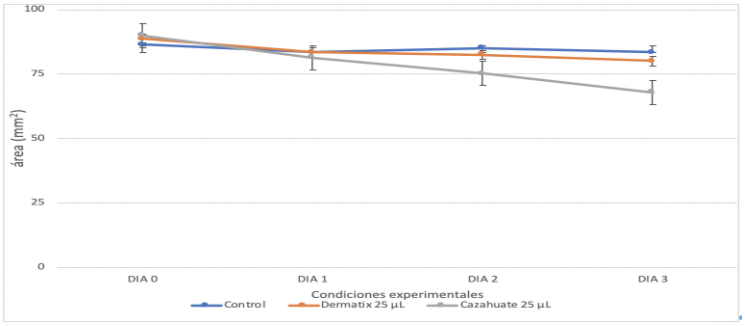


Figura 42. Comportamiento de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 3 posterior a la toma de muestra histológica.

En el gráfico se observa el comportamiento del área en mm^2 de los tres grupos experimentales desde el día de la toma de biopsia hasta el día 3, con un valor que va disminuyendo a través de los días transcurridos, en el cual se observó una notable diferencia en la disminución de área de la herida por parte del grupo tratado con cazahuate, se observa un incremento en el tamaño de la herida por parte del grupo control negativo en el segundo día posterior a la toma de biopsia ocasionado por una mayor respuesta inflamatoria, se observan los puntos de corte para cada día con sus respectivas desviaciones que representan el tamaño máximo y mínimo de las heridas de los diferentes grupos.

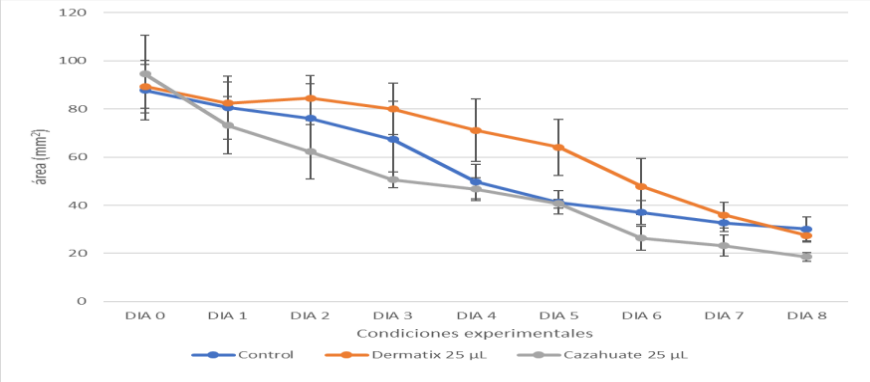


Figura 43. Comportamiento de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 8 posterior a la toma de muestra histológica.

En el gráfico se observa el comportamiento del arrea en mm^2 de los tres grupos experimentales desde el día de la toma de biopsia hasta el día 8, en el cual se observó una notable diferencia en la disminución de área de la herida por parte del grupo tratado con Cazahuate, así como una importante disminución acelerada por parte del grupo control positivo tratado con Dermatix a partir del día 5 superando el control negativo el día 8.

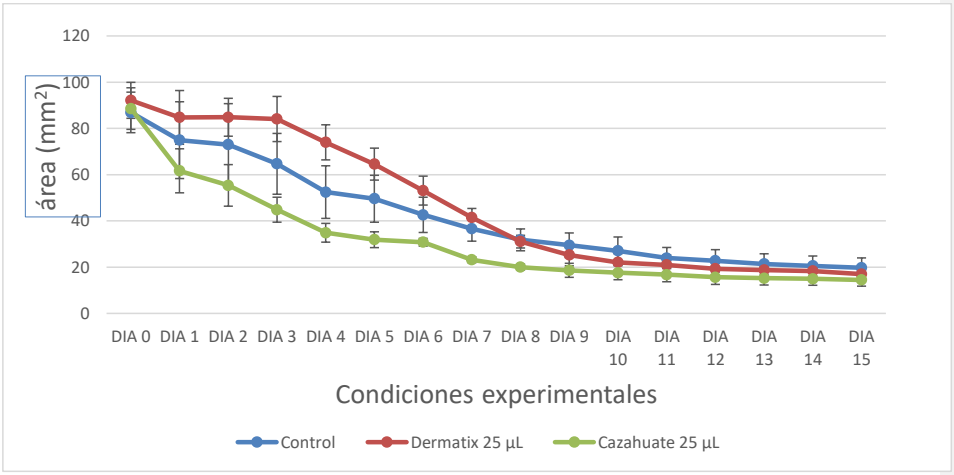


Figura 44. Comportamiento de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 15 posterior a la toma de muestra histológica.

En el gráfico se observa el comportamiento del área en mm^2 de los tres grupos experimentales desde el día de la toma de biopsia hasta el día 15, en el cual se observó una importante disminución de área de la herida por parte del grupo tratado con Cazahuate durante los primeros días y encontrándose una herida de menor tamaño para este grupo al término de los 15 días, seguido por el grupo tratado con Dermatix y por último, en el control negativo hubo una disminución en la reducción de la herida visiblemente a partir del día 11 para los tres grupos experimentales.

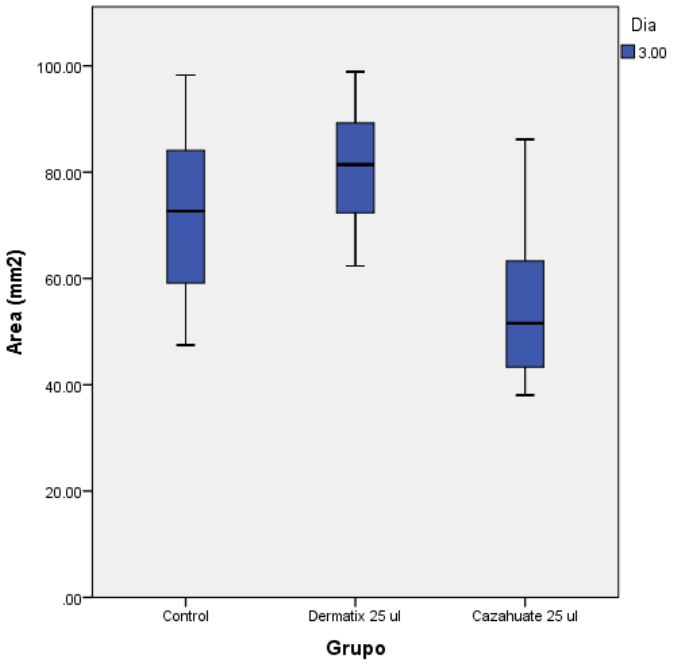


Figura 45. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 3 posterior a la toma de muestra histológica**.**

En el gráfico se compara el tamaño de la herida en mm^2 de los tres grupos experimentales al tercer día posterior a la toma de biopsia, encontrándose una notable diferencia en la disminución de área de la herida en el grupo tratado con Cazahuate y

una mayor distribución de las medidas para este grupo concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 75, en el grupo tratado con Dermatix presentó las medidas de mayor tamaño con menor variación en cuanto a los valores máximos y mínimos para este grupo se observa mayor concentración de medidas en el cuadril 50, mientras que el grupo control presentó una amplia distribución entre el valor máximo y mínimo concentrando la mayor parte de valores en el cuadril 50.

ANOVA de un factor

Área (mm2)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6714.577	2	3357.289	17.643	.000
Intra-grupos	9704.643	51	190.287		
Total	16419.220	53			

Tabla 5. Prueba de ANOVA un factor del día 3

Una vez comprobada la homogeneidad de los datos se realizó el comparativo de las medias de los grupos experimentales en el tercer día posterior a la toma de biopsia para saber si existen diferencias significativas a través de la prueba de ANOVA de un factor, con un valor de significancia (0.000) menor a 0.05 estadísticamente bastante significativa con un 95 % de confianza.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Área (mm2)

	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	Control	Dermatix 25 µL	-9.55794	4.59815	.104	-20.6578	1.5419
		Cazahuate 25 µL	17.38028*	4.59815	.001	6.2804	28.4801
	Dermatix 25 µL	Control	9.55794	4.59815	.104	-1.5419	20.6578
		Cazahuate 25 µL	26.93822*	4.59815	.000	15.8384	38.0381
	Cazahuate 25 µL	Control	-17.38028*	4.59815	.001	-28.4801	-6.2804
		Dermatix 25 µL	-26.93822*	4.59815	.000	-38.0381	-15.8384

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla 6. Prueba Post Hoc del día 3

Al encontrar una diferencia significativa se corre un análisis Post Hoc de Tukey que identificó el valor de diferencia significativo mostrado en la tabla, en la cual se identifica una diferencia bastante significativa (0.001) entre el grupo tratado con extracto acuoso de Cazahuate y el grupo Control negativo, así como una diferencia bastante significativa (0.000) entre el grupo tratado con Cazahuate y el grupo Control positivo tratado con el producto comercial Dermatix.

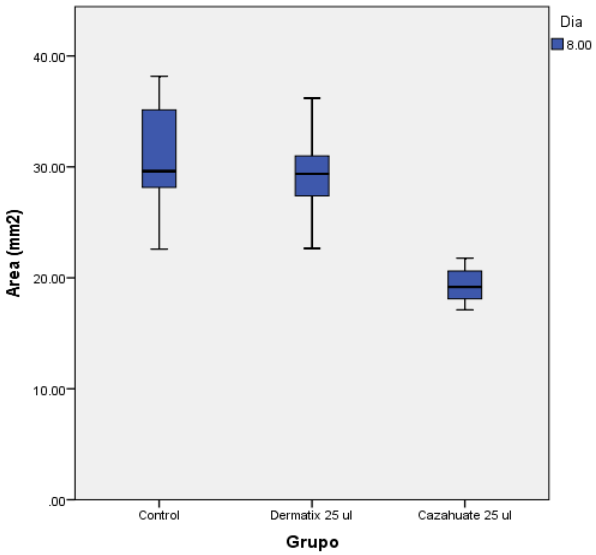


Figura 46. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 8 posterior a la toma de muestra histológica.

En el gráfico se compara el tamaño de la herida en mm^2 de los tres grupos experimentales a los 8 días posteriores a la toma de biopsia, encontrándose una notable diferencia en la disminución de área de la herida en el grupo tratado con Cazahuate con una menor distribución en el rango de las medidas, entre la medida mayor y la menor tamaño, concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 75, en el grupo tratado con Dermatix disminuyeron las dimensiones de las heridas presentando un rango similar tanto para las de mayor como para las de menor tamaño, la mayor concentración de sus valores se presentó en el cuadril 50, el grupo control negativo presentó las medidas de mayor tamaño con un rango más amplio que los otros grupos concentrándose la mayor parte de medidas en el cuadril 75.

Tabla 7. Prueba de ANOVA un factor del día 8

Se realizó el comparativo de las medias de los grupos experimentales en el octavo día posterior a la toma de biopsia para saber si existen diferencias significativas a través de la prueba de ANOVA de un factor con un valor de significancia (0.000) menor a 0.05 estadísticamente bastante significativo con un 95 % de confianza.

ANOVA de un factor

Área (mm2)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	953.849	2	476.925	40.481	.000
Intra-grupos	388.788	33	11.781		
Total	1342.638	35			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Área (mm2)

	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	Control	Dermatix 25 µL	1.69125	1.40128	.458	-1.7472	5.1297
		Cazahuate 25 µL	11.66625*	1.40128	.000	8.2278	15.1047
	Dermatix 25 µL	Control	-1.69125	1.40128	.458	-5.1297	1.7472
		Cazahuate 25 µL	9.97500*	1.40128	.000	6.5366	13.4134
	Cazahuate 25 µL	Control	-11.66625*	1.40128	.000	-15.1047	-8.2278
		Dermatix 25 µL	-9.97500*	1.40128	.000	-13.4134	-6.5366

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla 8. Prueba Post Hoc del día 8

Al encontrar una diferencia significativa se corre un análisis Post Hoc de Tukey que identificó el valor de diferencia significativo mostrado en la tabla, en la cual se identifica una diferencia bastante significativa (0.000) entre el grupo tratado con extracto acuoso de Cazahuate y el grupo Control negativo, así como una diferencia bastante significativa (0.000) entre el grupo tratado con Cazahuate y el grupo Control positivo tratado con el producto comercial Dermatix.

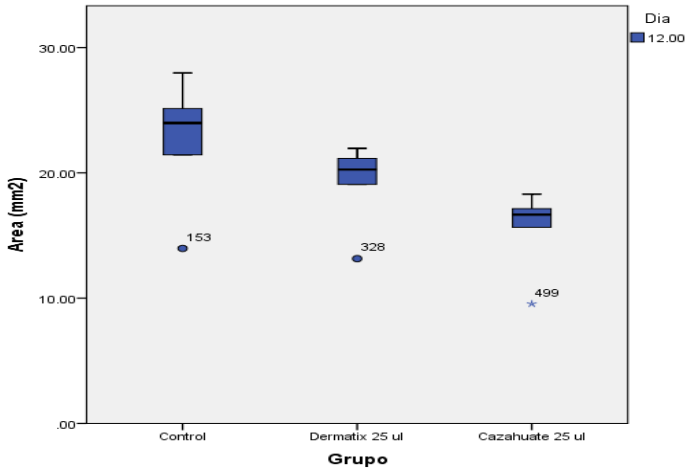


Figura 47. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 12 posterior a la toma de muestra histológica.

En el gráfico se comparó el tamaño de la herida en mm^2 de los tres grupos experimentales al duodécimo día posterior la toma de biopsia, encontrándose una notable diferencia en la disminución de área de la herida en el grupo tratado con Cazahuate con una menor distribución en el rango de las medidas, siendo la mediana más próxima al valor mínimo, concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 50, en el grupo tratado con Dermatix disminuyó el rango de las dimensiones de las heridas siendo la mediana más próxima al valor mínimo, a su vez el valor máximo esta más cerca a la mediana que en los demás grupos experimentales, la mayor concentración de sus valores se presentó en el cuadril 50, el grupo control negativo presentó las medidas de mayor tamaño con un rango más amplio que los otros grupos concentrándose la mayor parte de medidas en el cuadril 50 con una mediana más próxima al valor mínimo y un valor máximo más retirado a esta, en comparación con los otros grupos experimentales.

ANOVA de un factor

Área (mm2)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	150.752	2	75.376	5.209	.019
Intra-grupos	217.036	15	14.469		
Total	367.788	17			

Tabla 9. Prueba de ANOVA un factor del día 12

Se realizó el comparativo de las medias de los grupos experimentales en el tercer día posterior a la toma de biopsia para saber si existen diferencias significativas a través de la prueba de ANOVA de un factor, con un valor de significancia (0.019) menor a 0.05 estadísticamente significativo con un 95 % de confianza.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Área (mm2)

	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	Control	Dermatix 25 µL	3.43550	2.19614	.291	-2.2689	9.1399
		Cazahuate 25 µL	7.08767*	2.19614	.015	1.3833	12.7921
	Dermatix 25 µL	Control	-3.43550	2.19614	.291	-9.1399	2.2689
		Cazahuate 25 µL	3.65217	2.19614	.251	-2.0522	9.3566
	Cazahuate 25 µL	Control	-7.08767*	2.19614	.015	-12.7921	-1.3833
		Dermatix 25 µL	-3.65217	2.19614	.251	-9.3566	2.0522

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla 10. Prueba Post Hoc del día 12

Al encontrar una diferencia significativa se corre un análisis Post Hoc de Tukey que identificó el valor de diferencia significativo mostrado en la tabla, en la cual se observó una diferencia significativa (0.015) únicamente entre el grupo tratado con extracto acuoso de Cazahuate y el grupo Control negativo.

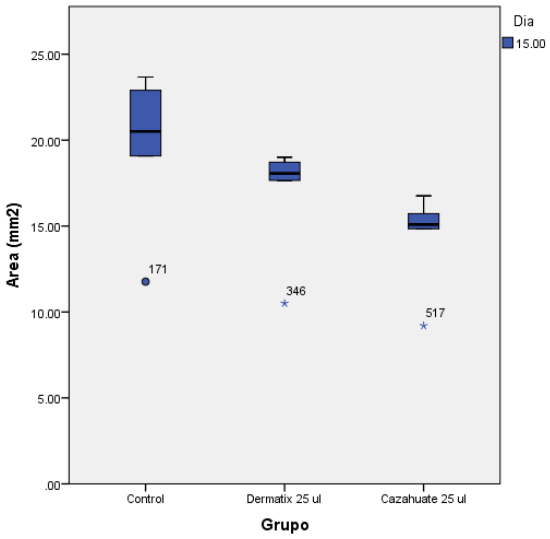


Figura 48. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales al día 15 posterior a la toma de muestra histológica.

En el gráfico se compara el tamaño de la herida en mm^2 de los tres grupos experimentales al decimoquinto día posterior a la toma de biopsia por grupo, encontrándose una notable diferencia en la disminución de área de la herida en el grupo tratado con Cazahuate con una menor distribución en el rango de las medidas, siendo la mediana más próxima al valor mínimo, concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 75 y presentando el valor máximo más retirado de la mediana en comparación con los otros grupos, en el grupo tratado con Dermatix la mediana se encuentra más próxima al valor mínimo, a su vez el valor máximo está más cerca a la mediana que en los demás grupos experimentales, la mayor concentración de sus valores se presentó en el cuadril 75, el grupo control negativo presentó las medidas de mayor tamaño y mayor rango de distribución de las medidas concentrándose la mayor parte en el cuadril 75 con una mediana más próxima al valor mínimo.

ANOVA de un factor

Área (mm2)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	83.870	2	41.935	3.533	.055
Intra-grupos	178.048	15	11.870		
Total	261.918	17			

Tabla 11. Prueba de ANOVA un factor del día 15

Se realizó el comparativo de las medias de los grupos experimentales en el decimoquinto día posterior a la toma de biopsia, para saber si existen diferencias significativas a través de la prueba de ANOVA de un factor, encontrándose un con un valor de significancia (0.055) mayor a 0.05 estadísticamente no significativo a un 95 % de confianza.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Área (mm2)

	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	Control	Dermatix 25 µL	2.73583	1.98912	.378	-2.4309	7.9025
		Cazahuate 25 µL	5.28633*	1.98912	.045	.1196	10.4530
	Dermatix 25 µL	Control	-2.73583	1.98912	.378	-7.9025	2.4309
		Cazahuate 25 µL	2.55050	1.98912	.426	-2.6162	7.7172
	Cazahuate 25 µL	Control	-5.28633*	1.98912	.045	-10.4530	-.1196
		Dermatix 25 µL	-2.55050	1.98912	.426	-7.7172	2.6162

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla 12. Prueba Post Hoc del día 15

Al encontrar una diferencia significativa se corre un análisis Post Hoc de Tukey que identificó el valor de diferencia significativo mostrado en la tabla, en la cual se observó una diferencia significativa (0.045) únicamente entre el grupo tratado con extracto acuoso de Cazahuate y el grupo Control negativo.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Área (mm2)

	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Bonferroni	Control	Dermatix 25 µL	2.73583	1.98912	.568	-2.6223	8.0940
		Cazahuate 25 µL	5.28633	1.98912	.054	-.0718	10.6445
	Dermatix 25 µL	Control	-2.73583	1.98912	.568	-8.0940	2.6223
		Cazahuate 25 µL	2.55050	1.98912	.658	-2.8077	7.9087
	Cazahuate 25 µL	Control	-5.28633	1.98912	.054	-10.6445	.0718
		Dermatix 25 µL	-2.55050	1.98912	.658	-7.9087	2.8077

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla 13. Prueba Post Hoc del día 15

Al encontrar una diferencia significativa se corre un análisis Post Hoc de Bonferroni que identificó el valor de diferencia significativo mostrado en la tabla, en la cual no se identifica una diferencia significativa entre ningún grupo experimental.

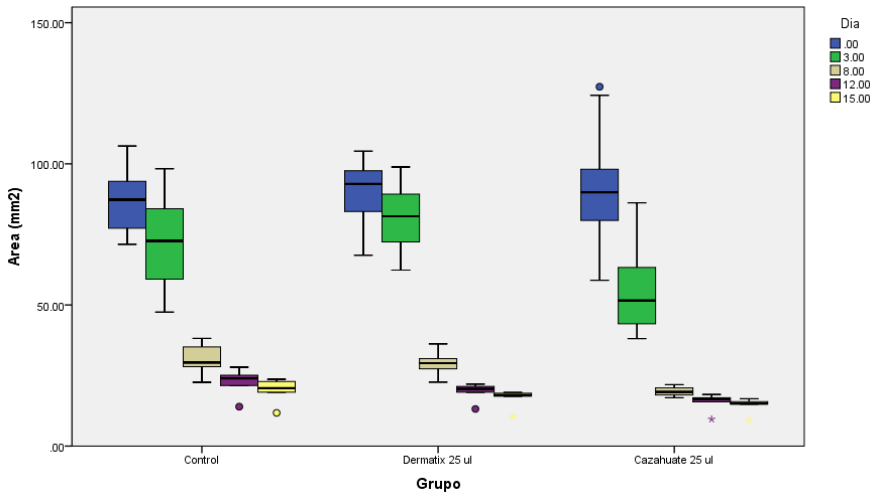


Figura 49. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0, 3, 8. 12 y 15 posteriores a la toma de muestra histológica.

En el gráfico de cajas se observa el comportamiento del área en mm^2 de los tres grupos experimentales comparándose el día 0 (toma de biopsia) con el día 3, 8, 12 y 15 respectivamente para cada grupo, encontrándose en el grupo tratado con Cazahuate una mayor distribución de las medidas para este grupo en día 0, concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 75, y una mayor disminución de las medidas de las heridas conforme transcurren los días en comparación con los otros grupos experimentales con una mediana más próxima al valor mínimo en cada día, seguido por el grupo control negativo en el día 3 para posteriormente ser el grupo tratado con el producto comercial Dermatix, el cual presentó menor dimensión en el tamaño de las heridas a partir del día 8 con una mediana más próxima al valor inferior en comparación con el grupo control que presentó una mediana más próxima al valor máximo en el día 12.

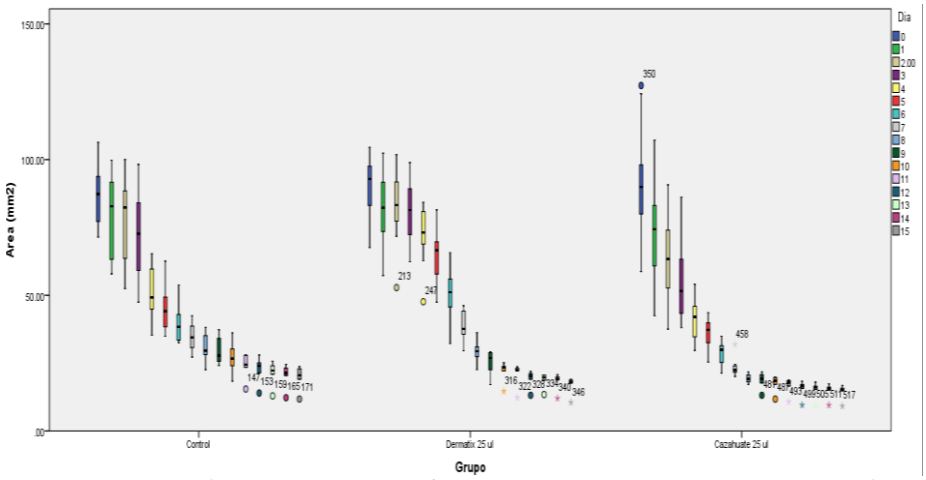


Figura 50. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales desde el día 0 al día 15 posteriores a la toma de muestra histológica.

En el gráfico de cajas se observa el comportamiento del área en mm^2 de los tres grupos experimentales comparándose desde el día 0 (toma de biopsia) hasta el día 15, encontrándose en el grupo tratado con Cazahuate y una mayor disminuciones el área de las medidas para este grupo desde los primeros días en comparación con los otros grupos que mantuvieron una mayor área en los primeros tres días posteriores a la toma de biopsia por mayor respuesta inflamatoria local, a partir del día 4 se observa una importante disminución del área de las heridas en los tres grupos siendo más notable en el grupo tratado con Cazahuate manteniéndose así hasta el día 15 en el que se aprecian menores rangos entre el valor máximo y mínimo desde el día 3 al 7 y del 12 al 14, seguido del grupo tratado con el producto comercial Dermatix en el que se encontraron menores rangos entre el valor máximo y mínimo a partir del día 8 al 12 y en el día 15, por último el control negativo en el cual presentó los rangos entre el valor máximo y mínimo más distantes con la mediana a parir del día 3 hasta el día 15.

9. Discusión

Los resultados obtenidos demuestran que la hipótesis del uso de extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora,* benefició el proceso de cicatrización, reduciendo los tiempos en la fase inflamatoria y favorece el proceso de proliferación y de maduración celular como se muestran en las figuras 43, 44 y 50 y en las tablas 6, 8, 10 y 12, disminuyendo y acelerando la respuesta inflamatoria en los primeros días, también favoreció la proliferación de fibroblastos y su cambio fenotípico a miofibroblasto, por lo que se observó una disminución del tamaño de la herida en el día 6 y 8 en comparación con los grupos control; al término de los 15 días la lesión final presenta una mayor homogeneidad con el tejido circulante a la lesión, con un aspecto más estético, en comparación con ambos controles. También se puede ver una mejora significativa en la remodelación y maduración del tejido en comparación con ambos controles así como una disposición de fibras de colágeno más organizadas, asimismo, se encontró que el control positivo tratado con el producto comercial Dermatix tuvo una sanación evidente a partir del día 7 que corresponde a la fase proliferativa al aumentar la actividad de fibroblastos en comparación con el grupo control negativo, al final su cicatriz no presentó ningún anexo cutáneo y mostró diferencias en pigmentación y aspecto macroscópico en comparación con el tejido circulante a la lesión, demostrado a partir del análisis histomorfológico.

El uso del extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* presenta una disminución de las actividad inflamatoria a partir de las primeras 24h, siendo más notable ésta en la comparación clínica de la herida a las 48 horas posteriores a la realización del corte quirúrgico, en el caso del control positivo se puede ver un incremento en la actividad inflamatoria a las 48 horas posteriores a la toma de la muestra histológica con las manifestaciones clínicas de eritema y mayor inflamación en bordes de la herida en comparación con los otros dos grupos, misma que ocasionaba que los especímenes de este grupo al presentar prurito terminara por autoinfligirse lesiones en bordes de la herida, en el caso del control negativo se puede ver una cicatrización más lenta con predominio de costra y tapón hemostático en las muestras histológicas de los primeros días y una cicatriz menos estética al finalizar el proceso de cicatrización , ya que era

más fibrosa e hiperpigmentada y al igual que el control positivo, tampoco presentó anexos cutáneos.

En el caso del control positivo no se vio una mejora significativa en comparación con los otros dos grupos en ninguna de las fases de la cicatrización, sin embargo, el grupo tratado con extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* su mayor actividad se observó sostenidamente en las 3 fases de la cicatrización, mostrando cambios importantes desde el día 2, 6 y 9 desde el ámbito macroscópico y estadísticamente significativo desde el día 3, 8 y 12, en el caso del control positivo que fue tratado con el producto comercial Dermatix se puede ver una mejoría el día 7 macroscópicamente en comparación con el control negativo pertenecientes a la segunda fase de la cicatrización que es la proliferación celular sin manifestar diferencias significativas en el estudio estadístico.

Al comparar los resultados con un estudio previo en la figura 16 se pudo observar que el desarrollo de la curva en el grupo control coincide con los resultados para el grupo control negativo, presentó un comportamiento similar al extracto empleado en dicho estudio, con la diferencia en que el extracto de *Ipomoea pauciflora,* el comportamiento de la curva de desarrollo del proceso de cicatrización se mantiene más plana y sostenida siendo más evidente a partir del día 2 al 4 y del día 6 a 9, en comparación con los controles, incluyendo el uso de las membranas empleadas en dicho estudio.

En esta investigación se encontró que el comportamiento de las heridas para el grupo tratado con Cazahuate fue similar a los obtenidos en estudios previos (76–78) y el efecto antiinflamatorio en este grupo de estudio se mantuvo presente como la regeneración de anexos cutáneos. La actividad procicatrizante del Cazahuate fue debido a la presencia de sus compuestos fenólicos, esteroides, lactonas y saponinas, metabolitos secundarios reportados en la literatura para *Ipomoea murucoides que* se observan en la tabla 14 (79) similares a los reportados para *Ipomoea pauciflora* en investigaciones anteriores (76–78), los cuales favorecen este proceso por acción de factores de crecimiento que estimulan la quimiotaxis de queratinocitos y fibroblastos, así como la reducción de la respuesta inflamatoria local y la actividad antibacteriana para Gram positivos que evitó infecciones por sobreexpresión de la flora habitual de la

piel de los especímenes, cabe mencionar que también favoreció la contracción de la herida y mayor concentración de fibras de colágeno con una disposición más paralela en comparación con los grupos controles.

En la figura 50 se observó el comportamiento de las lesiones en mm^2 durante los 15 días de estudio para cada grupo experimental, con sus diferentes valores máximos y mínimos para cada grupo, en el que se identificó que el grupo tratado con Cazahuate presentó una mayor disminución del área de las heridas desde los primeros días en comparación con los otros grupos que mantuvieron una mayor área de la herida en los primeros tres días posteriores a la toma de biopsia por mayor respuesta inflamatoria local, a partir del día 4 se observó una importante disminución del área de las heridas en los tres grupos siendo más notable en el grupo tratado con Cazahuate manteniéndose así hasta el día 15 en el que se aprecian menores rangos entre el valor máximo y mínimo desde el día 3 al 7 y del 12 al 14, seguido del grupo tratado con el producto comercial Dermatix en el que se encontraron menores rangos entre el valor máximo y mínimo a partir del día 8 al 12 y en el día 15, por último el control negativo que presentó los rangos entre el valor máximo y mínimo más distantes con la mediana a partir del día 3 hasta el día 15.

10. Conclusiones

En la investigación de esta tesis se empleó el modelo experimental con ratas de la cepa Wistar, ya que poseen gran similitud tanto genómica, fisiológica, anatómica e histológicamente en diversos órganos y sistemas con el humano, el sistema tegumentario de este modelo experimental posee una semejanza en espesor, composición, función y presencia de los anexos cutáneos exceptuando la ausencia de glándulas sudoríparas (80,81), este modelo es el más empleado en la investigación por ser más económico, reproductible y accesible en comparación con otros modelos experimentales siendo en algunos casos secundario a pruebas *in silico* para la optimización y desarrollo de nuevos fármacos (82,83).

Al analizar los resultados de la medición de las áreas, los estudios histomorfológicos y los estudios estadísticos se puede inferir que las diferentes aceleraciones en el proceso de cicatrización están favorecidas debido a la inhibición y activación indirecta de las vías de señalización por parte de los diversos compuestos orgánicos que se hallan presentes en los extractos acuosos del Cazahuate.

En el proceso inflamatorio agudo originado por una lesión en la piel desencadena la liberación de citosinas proinflamatorias quimiotácticas, las cuales son reguladas por células de granulación y diversos factores de crecimiento que presentan una autorregulación que finaliza con la restauración del tejido lesionado, sin embargo, se ha estudiado el uso de metabolitos secundarios de plantas como alternativa o coadyuvante en el tratamiento para la regeneración celular en heridas en función de sus compuestos activos como lo son los flavonoides, alcaloides, antraquinonas, esteroides, terpenoides, entre otros. Estos pueden regular la actividad, ya sea proinflamtoria o antinflamatoria, dependiendo de sus concentraciones, así como la actividad humoral y de replicación en fibroblastos, por lo que en este trabajo se empleó el extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora*, ya que posee diversos metabolitos secundarios capaces de regular la actividad celular y por ende favorecer la sanación de heridas de manera eficiente.

La aplicación del extracto acuoso *Ipomoea pauciflora* presentó acción procicatrizante al disminuir la respuesta inflamatoria local y estimular la generación de un tejido con características con mayor similitud al tejido original que el logrado con el transcurso natural sin intervención alguna o empleando gel de silicona.

Al comparar los costos de los tratamientos actuales, materiales, insumos, recursos humanos e infraestructura; se puede concluir que empleando el extracto de *Ipomoea pauciflora* como coadyuvante en la cicatrización de heridas reducirá significativamente el costo a pacientes e instituciones e incluso ser una terapia alternativa en zonas marginales en las que no son suficientes los insumos médicos o se encuentren sin poder tener acceso a estos, ya que es un recurso de bajo costo y de fácil adquisición en la zona sur del país; al contener dentro de sus principios metabolitos secundarios con actividad biológica, antibacteriana y antinflamatoria se reducirán o limitarán las infecciones oportunistas o por invasión de flora bacteriana.

Al realizar esta investigación pude comprobar que al emplear el extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* interviene activamente en la fase inflamatoria, proliferativa y maduración del tejido por medio de análisis histomorfológico, y además favorece la presencia de anexos cutáneos como los folículos pilosos y glándulas sebáceas que son con las que cuenta la piel de los especímenes estudiados, cumpliendo los objetivos de esta investigación.

También se evaluó el comportamiento y características del colágeno encontrándose, mayormente, fibras organizadas homogéneas en un tejido denso. Sin embargo, no se pudo valorar el fenotipo de colágeno que este presentaba por lo que se espera sea del tipo III que se deposita en la reparación de la lesión y no el tipo l que reemplaza al tipo III a partir de unos meses y hasta al año y medio, esto porque el estudio se realizó en un periodo de 15 días y por no contar con la tinción especial (Prico – Sirus) capaz de diferenciar el fenotipo de colágeno para su cuantificación, ni la resistencia de la fuerza tensil del tejido nuevo al no tener disponible el equipo adecuado para su medición.

Finalmente, concluyo que a pesar de que el estudio se hizo en individuos sanos, por lo que debe realizarse otro estudio en el cual la población presente características similares a nuestra población, con factores de riesgo por ejemplo: enfermedades crónico degenerativas como diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, síndrome metabólico, dislipidemias, obesidad, alteraciones en la respuesta mediada por citosinas, toxicomanías como tabaquismo o consumo de alcohol, y población senescente que presenta mayores alteraciones que retrasan el proceso de cicatrización generando heridas crónicas.

11. Consideraciones a futuro

Realizar un estudio en una población con características similares a la población mexicana actual, realizar cultivo *in vitro* de fibroblastos con adición de extracto acuoso de *Ipomoea pauciflora* para la identificación de su comportamiento y posible estimulación y activación, emplear la tinción de Prico-Sirus para evaluar el fenotipo de colágeno que se encuentra al finalizar el proceso de cicatrización, la medición de la resistencia de la fuerza tensil para los nuevos tejidos formados y la realización de

pruebas de HPLC para la identificación de los metabolitos secundarios específicos responsables en la actividad antiinflamatoria y procicatrizante que presentan los extractos acuosos de *Ipomoea pauciflora.*

12. Bibliografía.

1. Basto CV. Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas [Internet]. Vol. 20, Investigaciones ANDINA INVESTIGACIONES ANDINA. 2010 [cited 2020 Jun 4]. Available from: http://www.scielo.org.co/pdf/inan/v12n20/v12n20a08.pdf
2. Balazs L, Okolicany J, Ferrebee M, Tolley B, Tigyi G. Topical application of the phospholipid growth factor lysophosphatidic acid promotes wound healing in vivo [Internet]. 2001 [cited 2020 Jun 4]. Available from: http://www.ajpregu.org
3. Mata Pinzon S et al. Cazahuate [Internet]. UNAM. 2012. Available from: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Cazahuate&id=7139
4. Rojas Alba, MarioMoreno Chamú E, López Plata A. Uso medicinal del cazahuate (Ipomoea murucoides Roem. et Schult). Tlahui-Medic [Internet]. 2012 [cited 2020 Jun 4];32(11). Available from: http://www.tlahui.com/medic/medic32/cazahuate.htm
5. Tosar Perez, Maria Ausunción, Alvarez Díaz, Tomás, Ríos Peres M. Ciencias epidemiológicas y salubristas el conocimiento de la ética-bioética del especialista de medicina tradicional y natural I parte [Internet]. Habana, Cuba; 2009 [cited 2020 Jun 4]. Available from: http://scielo.sld.cu
6. Mata Pinzon S et al. Medicina tradicional mexicana [Internet]. Medicina tradicional mexicana. 2009 [cited 2015 May 20]. Available from: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/presenta.html
7. Jimenez Silva AA. Medicina tradicional. CONAMED [Internet]. 2017 [cited 2020 Jun 13];2–6. Available from: http://www.conamed.gob.mx/gobmx/boletin/pdf/boletin13/medicina_tradicional.pdf?fbclid=IwAR0oPvBgeYdXBmduvKjxAlSUUAHDlDC-AcwVTtWkmsFHIoQuLPeuqScRPIY
8. Cruz Jiménez S. Medicina tradicional mexicana [Internet]. Cultura UNAM. 2020 [cited 2020 Jun 30]. Available from: https://cultura.unam.mx/evento/podcast-medicina-tradicional-mexicana-1

9. Mayorga N. Puebla se distingue por reconocer e impulsar la medicina tradicional [Internet]. El Toper BUAP. 2017 [cited 2020 Jun 30]. Available from: http://eltoper.com/trending/puebla-se-distingue-por-reconocer-e-impulsar-la-medicina-tradicional/
10. Castro I. Actualidad de la medicina tradicional herbolaria [Internet]. IMBIOMED. 2006 [cited 2019 Jun 15]. Available from: https://imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=48790&id_seccion=309&id_ejemplar=4943&id_revista=77
11. Cañigueral S, Dellacassa E, Bandoni AL. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? acta Farm Bonaerence [Internet]. 2003 [cited 2020 Jun 25];22(ISSN 0326-2383):265–78. Available from: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf?fbclid=IwAR0h253nodTlg1sarwdxZSALeK5L-ugvGP4J5UE2OVe9el4nxY6X0mEZw-M
12. Prieto-González S, Garrido-Garrido G, González-Lavaut JA, MolinaTorres J. Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. Rev CENIC Ciencias Biológicas,. 2004 Apr 1;35:19–36.
13. Romero González E. Medicina tradicional mexicana, una alternativa para tu salud [Internet]. Código San Luis. 2019 [cited 2020 Jun 30]. Available from: https://www.codigosanluis.com/medicina-tradicional-mexicana-alternativa-salud/
14. Koc K, Erol HS, Colak S, Cerig S, Yildirim S, Geyikoglu F. The protective effect of propolis on rat ovary against ischemia-reperfusion injury: Immunohistochemical, biochemical and histopathological evaluations. Biomed Pharmacother. 2019 Mar 1;111:631–7.
15. Voss GT, Gularte MS, Vogt AG, Giongo JL, Vaucher RA, Echenique JVZ, et al. Polysaccharide-based film loaded with vitamin C and propolis: A promising device to accelerate diabetic wound healing. Int J Pharm. 2018 Dec 1;552(1–2):340–51.
16. Ceja-Romero J, Pérez-Olvera C de la P. Anatomía de la madera de las especies arbóreas de Ipomoea (Convolvulaceae). Madera y bosques. 2010;16(3):61–73.

17. Menon GK, Feingold KR, Moser AH, Brown BE, Elias PM. De novo sterologenesis in the skin. Regulation by cutaneous barrier requirements [Internet]. Vol. 26, Journal of Lipid Research. 1985. Available from: www.jlr.org
18. Chávez-Robledo P, Medina-López YM, González-Treviño JL, Aranda-Audelo M, García-Guerrero J. La Oftalmología en el Códice De la Cruz-Badiano [Internet]. alianzanahuac. 2015 [cited 2020 Jun 30]. Available from: https://alianzanahuaca.org/2015/09/23/la-oftalmologia-en-el-codice-de-la-cruz-badiano/
19. De la Cruz M, Badiano J. Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis, “Códice Badiano” [Internet]. INAH. 1552 [cited 2020 Jun 30]. Available from: https://mediateca.inah.gob.mx/repositorio/islandora/object/codice:851#page/134/mode/2up
20. Quevedo Leon Y. Plantas medicinales: un estudio de caso etnobotanico en la localidad de Ocotepec, municipio de Cuenavaca, Morelos. [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de México; 2015 [cited 2020 Jun 15]. Available from: http://132.248.9.195/ptd2015/marzo/0727525/0727525.pdf
21. Suzán Azpiri H. Ipomoea murucoides [Internet]. Facultad ciencias biologicas UAQ. 2010. Available from: https://www.uaq.mx/FCN/naturaleza/Ipomea murucroides.php
22. Rojas-Chavez S, Vibrans H, Tenorio Lezama P. Ipomoea murucoides - ficha informativa [Internet]. Conabio. 2011 [cited 2020 Jun 4]. Available from: http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/convolvulaceae/ipomoea-murucoides/fichas/ficha.htm
23. Mata Pinzon, S et al. Ipomoea pauciflora [Internet]. UNAM. 2012 [cited 2017 May 10]. Available from: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Ipomoea pauciflora&id=7140
24. Carranza E. Diversidad del género Ipomoea l. (convolvulaceae) en el estado de Michoacán, México [Internet]. CONABIO. 2008 [cited 2020 Jun 4]. p. 5–123. Available from: http://inecolbajio.inecol.mx/floradelbajio/documentos/fasciculos/complementario

s/ComplementarioXXIII.pdf

25. Mila Arango R. Identificación de dos spp de Ipomoea y evaluación in vitro del extracto metanólico como problema de intoxicación en cabras [Internet]. colegio de postgraduados; 2013. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722014000400002
26. Dorado-Ruiz, Óscar Dorado Ó, de Jesús-Almonte JM, M. Arias D, López K, Pascual M, Flores-Castorena, Álvaro Martínez-Alvarado D. Convolvulaceae del Trópico Seco. Dorado-Ruiz Ó, editor. Cuernavaca: UAEM, CONABIO; 2013. 16–99 p.
27. Vázquez J. Ipomoea pauciflora [Internet]. IREKANI, Instituto de Biología. UNAM. 2010 [cited 2020 Jun 30]. p. 1. Available from: http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/11958?proyecto=Irekani
28. Corona-Castañeda B, Chérigo L, Fragoso-Serrano M, Gibbons S, Pereda-Miranda R. Modulators of antibiotic activity from Ipomoea murucoides. Phytochemistry. 2013 Nov 1;95:277–83.
29. Chérigo L, Pereda-Miranda R, Fragoso-Serrano M, Jacobo-Herrera N, Kaatz GW, Gibbons S. Inhibitors of bacterial multidrug efflux pumps from the resin glycosides of Ipomoea murucoides [Internet]. Vol. 71, Journal of Natural Products. American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy; 2008 Jun [cited 2020 Sep 11]. Available from: https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np800148w
30. Chérigo L, Pereda-Miranda R, Gibbons S. Bacterial resistance modifying tetrasaccharide agents from Ipomoea murucoides. Phytochemistry. 2009 Jan 1;70(2):222–7.
31. Andrade Cetto A. Etnofarmacología [Internet]. UNAM. 2013 [cited 2020 Jun 4]. Available from: http://www.fciencias.unam.mx/docencia/horarios/presentacion/223009
32. Bruhn JG, Rivier L. Ethnopharmacology – A journal, a definition and a society. J Ethnopharmacol [Internet]. 2019 Oct 5 [cited 2020 Jun 4];242:112005. Available from:

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874119314175?via%3Dihub

33. Moura LFWG, da Silva Neto JX, Lopes TDP, Benjamin SR, Brito FCR, Magalhães FEA, et al. Ethnobotanic, phytochemical uses and ethnopharmacological profile of genus Cnidoscolus spp. (Euphorbiaceae): A comprehensive overview. Vol. 109, Biomedicine and Pharmacotherapy. Elsevier Masson SAS; 2019. p. 1670–9.
34. Carmignan F, Matias R, Carollo CA, Dourado DM, Fermiano MH, Silva BAK, et al. Efficacy of application of Equisetum pyramidale Goldm. hydrogel for tissue restoration of induced skin lesions in Wistar rats. Brazilian J Biol [Internet]. 2019 May 9 [cited 2019 Aug 13]; Available from: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842020000100012&tlng=en
35. Picolotto A, Pergher D, Pereira GP, Machado KG, da Silva Barud H, Roesch-Ely M, et al. Bacterial cellulose membrane associated with red propolis as phytomodulator: Improved healing effects in experimental models of diabetes mellitus. Biomed Pharmacother. 2019 Apr 1;112:108640.
36. Carrión Jara AV, Rafaela GGC, Wilches A. I. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica [Internet]. Universidad de Cuenca; 2010 [cited 2020 Jun 25]. Available from: http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf?fbclid=IwAR0VxVxdJFH24HukHdTOiKBcTvNls8QK3ANzCpFgKNYJDfUcZ_F6BswX2uQ
37. Ravindranath MH, Muthugounder S, Presser N, Viswanathan S. Anticancer therapeutic potential of soy isoflavone, genistein. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2004 [cited 2019 Aug 15];546:121–65. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15584372
38. Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. Inflamm Allergy Drug Targets [Internet]. 2009 Jul [cited 2019 Aug 15];8(3):229–35. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19601883

39. Ambiga S, Narayanan R, Gowri D, Sukumar D, Madhavan S. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from ipomoea carnea jacq. Anc Sci Life [Internet]. 2007 Jan [cited 2019 Aug 15];26(3):45–51. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22557241
40. Anstead GM. Steroids, retinoids, and wound healing. Adv Wound Care [Internet]. 1998 Oct [cited 2019 Aug 15];11(6):277–85. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10326344
41. Esposito D, Rathinasabapathy T, Schmidt B, Shakarjian MP, Komarnytsky S, Raskin I. Acceleration of cutaneous wound healing by brassinosteroids. Wound Repair Regen. 2013 Sep;21(5):688–96.
42. Vukelic S, Stojadinovic O, Pastar I, Vouthounis C, Krzyzanowska A, Das S, et al. Farnesyl pyrophosphate inhibits epithelialization and wound healing through the glucocorticoid receptor. J Biol Chem. 2010 Jan 15;285(3):1980–8.
43. Kim YS, Cho IH, Jeong MJ, Jeong SJ, Nah SY, Cho YS, et al. Therapeutic efect of total ginseng saponin on skin wound healing. J Ginseng Res. 2011;35(3):360–7.
44. Kimura Y, Sumiyoshi M, Kawahira K, Sakanaka M. Effects of ginseng saponins isolated from Red Ginseng roots on burn wound healing in mice. Br J Pharmacol. 2006 Jul 22;148(6):860–70.
45. Peter Fetse J, Oppong Kyekyeku J, Dueve E, Buadu Mensah K, Wang D, Lucien Nkono Ya Nkono B. Wound Healing Activity of Total Alkaloidal Extract of the Root Bark of Alstonia boonei (Apocynacea). Orig Res Artic Br J Pharm Res. 2014;4(23):2642–52.
46. Dong Y, He L, Chen F. Enhancement of wound healing by taspine and its effect on fibroblast. Zhong yao cai Zhongyaocai J Chinese Med Mater. 2005 Jul;28(7):579–82.
47. Nakagawa M, Ohno T, Maruyama R, Okubo M, Nagatsu A, Inoue M, et al. Sesquiterpene lactone suppresses vascular smooth muscle cell proliferation and migration via inhibition of cell cycle progression. Biol Pharm Bull [Internet]. 2007 Sep [cited 2019 Aug 15];30(9):1754–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17827734

48. Ahamed BMK, Krishna V, Malleshappa KH. In vivo wound healing activity of the methanolic extract and its isolated constituent, gulonic acid γ-lactone, obtained from Grewia tiliaefolia. Planta Med. 2009 Apr;75(5):478–82.
49. Guarín-Corredor[1] C, Quiroga-Santamaría[1] P, Stella N, Msc[2] L-P, Resumen |. Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas Wound healing process of skin, endogenous fields related and chronic wounds.
50. Montalvo Arenas CE, pasos Nájera F, Hernández Trujillo R. Sistema tegumentario: piel y anexos (faneras) [Internet]. Ciudad de México; 2010 [cited 2020 Jun 15]. Available from: http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/Portal de Recursos en Linea/Apuntes/Sistema-tegumentario.pdf
51. Lehrer M, Zieve D, Conaway B. La piel. In: ADAM [Internet]. A.D.A.M.; 2019 [cited 2020 Jun 30]. p. 1. Available from: http://trihealth.adam.com/content.aspx?productid=118&pid=6&gid=19679
52. Andrades P, Sepúlveda S. Cicatrización normal. In: Universidad de Chile, editor. Cirugía plastica esencial [Internet]. Primera ed. Santiago de Chile: O'Print impresores; 2005 [cited 2020 Jun 13]. p. 20–9. Available from: http://www.patricioandrades.cl/wp-content/uploads/2011/05/3-Cicatrizacion-Normal.pdf?fbclid=IwAR08xTbbKp4CQPDoKNDF7c04-3DSwylWp0eN2ndNRS6soEZAOdYPOjPGKTc
53. Cir C, Salem C, Antonio Pérez J, Henning E, Uherek F, Schultz C, et al. Heridas. Conceptos generales [Internet]. Vol. 14. 2000. Available from: http://www.academiamedicinaestetica.cl/assets/heridas,-conceptos-generales.pdf
54. Villalba LI, Bilevich E, Bermúdez S, Herrera M, Hochman A, Moreno H, et al. concenso sobre cicatrización de heridas [Internet]. 2007 [cited 2016 Apr 10]. Available from: https://www.aiach.org.ar/ckfinder/userfiles/files/cicatrizacion.pdf
55. BOSCH Á. Las heridas y su tratamiento [Internet]. Vol. 20, ELSEVIER. Doyma; 2001 [cited 2019 Aug 13]. 89–92 p. Available from: http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-las-heridas-su-tratamiento-13018317

56. Decinti Weiss E. Heridas. In: Medicina U de CF de, editor. Bases de la medicina clínica [Internet]. 1st ed. Santiago de Chile: Universidad de Chile Facultad de Medicina; 2008 [cited 2020 Jun 15]. p. 2–17. Available from: https://www.basesmedicina.cl/cirugia/16_1_heridas/16_1_heridas.pdf?fbclid=IwAR18j1x1RSSvnlPSdTknJZoIUfWbY4RdSaq4BySnj8nr7qjGlfNF75n9rB0
57. Senet P. Fisiología de la cicatrización cutánea. 2008.
58. Albarrán ME, Sánchez JA. Tema 2: Lesiones producidas por arma blanca: lesiones, diagnóstico y problemas médico-legales. [Internet]. Madrid; 2017 [cited 2020 Jun 16]. Available from: https://www.ucm.es/data/cont/docs/1653-2019-04-27-107-2017-12-06-Tema 2. Lesiones originadas por armas blancas.pdf?fbclid=IwAR3rdCr4cP6yifNXcJzTfqKG1_icZbG75vY2qgdQ7sv8_AFwsjG_hm0Bn4Y
59. Andrades P, Sepúlveda S. Quemaduras. In: Universidad de Chile, editor. Cirugía plastica esencial [Internet]. Primera ed. Santiago de Chile: O'Print impresores; 2005 [cited 2020 Jun 13]. p. 84–103. Available from: https://coursalo.com/wp-content/uploads/2018/07/quemaduras.pdf?fbclid=IwAR3wcQZ0kJBWdcOxWBucwcWnAbwQYRl6gC7TUK3a8-iixu8U-rz0m1OPpRU
60. Andrades DP, Sepúlveda S, González YEUJ. Curación avanzada de heridas. Vol. 56, Rev. Chilena de Cirugía. 2004.
61. Abel AG. La cicatrización y el proceso de curación de las heridas. In: McGraw-Hill, editor. Cirugía 1 Educación quirúrgica [Internet]. 6ta ed. McGraw-Hil; 2017 [cited 2020 Jun 15]. p. 39–57. Available from: https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2194&sectionid=167841159
62. Conde Montero E. proceso cicatrización [Internet]. Dra. Elena Conde Montero. 2019 [cited 2020 Jun 30]. Available from: https://www.elenaconde.com/miofibroblasto-gran-olvidado-la-cicatrizacion/celulas-proceso-cicatrizacion/
63. Picolotto A, Pergher D, Pereira GP, Machado KG, da Silva Barud H, Roesch-Ely M, et al. Bacterial cellulose membrane associated with red propolis as phytomodulator: Improved healing effects in experimental models of diabetes

mellitus. Biomed Pharmacother. 2019 Apr 1;112.

64. Huerta García L antonio. Cicatrización. [Internet]. wordpress. 2018 [cited 2020 Jun 30]. Available from: https://luishuert.wordpress.com/2018/01/21/cicatrizacion/
65. Carrión M. FASES DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS [Internet]. Blogger. 2015 [cited 2020 Jul 1]. Available from: https://enfermaca.blogspot.com/2015/05/fases-de-cicatrizacion-de-las-heridas.html
66. Proceso de curación de heridas cutáneas [Internet]. Blogger. 2011 [cited 2020 Jun 30]. Available from: http://elmercaderdelasalud.blogspot.com/2011/05/conservacion-de-la-homeostasis-proceso.html
67. Geónimo S. FASES DE LA CICATRIZACIÓN [Internet]. Blogger. 2019 [cited 2020 Jul 1]. Available from: https://rdexswzws.home.blog/2019/02/18/63/
68. López E. Fases de la cicatrizacion normal [Internet]. SlideShare. 2013 [cited 2020 Jul 1]. Available from: https://es.slideshare.net/9511952522/fases-de-la-cicatrizacion-normal
69. Velasco Suarez M. Unidad 5 cicatrizacion [Internet]. SlideShare. 2012 [cited 2020 Jul 1]. p. 17. Available from: https://es.slideshare.net/usmar12/unidad-5-cicatrizacion
70. Ordaz FL. Cicatrización de heridas [Internet]. wordpress. 2018 [cited 2020 Jul 1]. Available from: https://fernandolordazmedicina.wordpress.com/2018/01/21/cicatrizacion-de-heridas/
71. Andrades P, Sepúlveda S. Cicatrizacón patologica. In: Chile U de, editor. Cirugía plastica esencial [Internet]. primera. Santiago de Chile: O'Print impresores; 2005. p. 32–41. Available from: http://www.patricioandrades.cl/wp-content/uploads/2011/05/4-Cicatrizacion-Patologica.pdf
72. Úlceras Fóra. Herida quirúrgica aguda [Internet]. Xunta de Galicia Consellería de Sanidae. 2019 [cited 2020 Jul 1]. Available from: https://ulcerasfora.sergas.gal/Informacion/Clasificacion-Cirurxica?idioma=es

73. Reid B, Song B, Mccaig CD, Zhao M. Wound healing in rat cornea: the role of electric currents. Eur PMC Funders Gr. 2005;19(3):379–86.
74. Mila-Arango R, Ramírez-Bribiesca E, Soto-Hernández RM, Hernández-Mendo O, Torres-Hernández G, Mellado-Bosque MÁ. Identification and phytochemical study of two species of cazahuate in goat intoxication in a community of oaxaca's mixteca region. Vol. 11, ASyD. 2014.
75. Romero Sánchez HE, Cárdenas García M, Morales Sánchez M. "Efecto de membranas de PLA/PVA obtenidas por electrohilado y extracto acuoso de Quercus ilex en el tratamiento de heridas pos-quirúrgicas en piel de rata de la cepa Wistar." [Puebla]: Benemerita Universodad Autonoma de Puebla; 2018.
76. Mundo Bastida AU, Cárdenas García M. Efecto de extractos acuosos de Ipomoea pauciflora en la recuperación postquirúrgica. Puebla; 2017.
77. Mundo Bastida AU, Cárdenas García M. Efecto de extractos acuosos de Ipomoea pauciflora en la recuperación postquirúrgica. Puebla; 2019.
78. Cholula Alarid R, Cárdenas García M. Efecto del Extracto Acuoso de Ipomoea pauciflora en la Recuperación Post-Quirúrgica en Ratas Wistar Diabéticas. Puebla; 2019.
79. Ramos Castro EG. Análisis fitoquímico de Ipomoea murucoides". [Ciudad de México]: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO; 2016.
80. Gulin E. Modelos Animales [Internet]. AACyTAL. 2018 [cited 2020 Oct 15]. Available from: http://aacytal.org/modelos-animales/?fbclid=IwAR02ZvNga4SuIn-crQ5tfd9cQKghjMfx77tBzAam5JRq_EjJzBS1nXRMVcM
81. Antonio Farjat-Aguilar A, Gerardo Barroso-Tanoira F. Proceso de cicatrización de la piel de rata con colágena enriquecida: descripción histológica [Internet]. Investigación Universitaria Multidisciplinaria: Revista de Investigación de la Universidad Simón Bolívar. USB. Universidad Simón Bolívar; 2009 [cited 2020 Oct 15]. Available from: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3347424&info=resumen&idioma=SPA
82. Bustamante Rojas C. Fases del desarrollo de un nuevo medicamento [Internet].

Universidad de la Sabana. 2001 [cited 2020 Oct 15]. p. 123–34. Available from: http://clinicalevidence.pbworks.com/w/file/fetch/63221078/FASES DE DESARROLLO.pdf?fbclid=IwAR3qyF5bUMwpWHLquQyUBWj0uvPFrM7OQDnNljBSTJjQFUHK5-GqR3bd9D4

83. Saldívar-González F, Prieto-Martínez FD, Medina-Franco JL. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. Educ Quim. 2017 Jan 1;28(1):51–8.

13. Anexos

15.1 Recolección de especímenes

Se comenzó con la recolección de corteza de *Ipomoea pauciflora* (Cazahuate) mediante la ayuda de la identificación de un nativo de la zona que me llevó a la “Sierra Negra”, en el poblado de Tlaltizapán, Morelos (con una ubicación exacta de 18°47'30.3"N 99°05'39.8"W, 18.791739, -99.094376) en el cual se buscó un árbol de Cazahuate que tuviera una edad aproximada o mayor a 10 años, de los marcados cuando se obtuvo la muestra para la identificación taxonómica realizada por el jardín botánico de la BUAP.

15.2 Colecta de ejemplares botánicos

En el mes de febrero de 2017 se realizaron las colectas de ejemplares botánicos, de los cuales se obtuvieron diferentes partes vegetativas (raíz, tallo y hojas), así como reproductoras (flor y fruto) de Cazahuate para su posterior identificación botánica, la colecta se realizó en la colonia Morelos, del ejido de Ticumán, perteneciente al municipio de Tlaltizapán, Morelos; durante la colecta se tomaron diferentes ejemplares, depositándolos en bolsas de manera íntegra, evitando su exposición al calor, mismas que fueron trasladadas para ser prensadas y secadas en el herbario. Los especímenes se recolectaron en forma habitual y se transportaron en un plazo de tiempo inferior a 24 h protegidas de la luz a temperatura ambiente.

Una parte del material obtenido se empleó para el análisis fitoquímico que se realizó de manera paralela y la otra para los experimentos que permitirán cumplir con los objetivos de este trabajo, además de su identificación botánica.

En el prensado, el material vegetal fresco se colocó en medio de un papel periódico, tratando de que sus órganos reproductivos quedaran visibles, permitiendo que el haz de las hojas quedara hacia arriba y algunas con el envés visible realizándose con una prensa botánica, que se entregó en el herbario y jardín botánico BUAP.

Se tomó nota de la información obtenida al momento de la colecta con apoyo de un GPS, se registró la ubicación exacta del lugar. Los habitantes proporcionaron nombres de los cerros y demás información necesaria para el etiquetado de las plantas.
El secado, identificación, montaje y etiquetado de los ejemplares botánicos fue realizado por el herbario BUAP.

15.3 Identificación botánica

La identificación de la planta fue realizada por el botánico Allen J. Coombes dando como resultado que el Cazahuate (nombre común) pertenece al género *Ipomoea*, especie y subespecie *pauciflora* pertenecientes a la familia *Convolvulaceae* proporcionándonos un ID: 69652.

15.4 Rangos de absorción UV de las familias de metabolitos secundarios para *I.murucoides*

Familias de Metabolitos Secundarios	λ max (nm)	Parte de la molécula que logra la absorción
Lactonas sesquiterpénicas	200-220	Anillo de lactona
Flavonoides y fenilpropanoides.	240-280	
Glicósidos cardiatónicos	220	α, β- insaturado anillo de ɣ-lactona
Cromonas.	240-250	
Furanocumarinas.	205-225 y 240-255	
Agliconas insaturadas o Saponinas esteroidales insaturadas	205-225 nm	No presentan absorción entre los 200 y 400 nm pero la introducción de un doble anillo en los grupos carbonilos, α, β-cetonas insaturadas
Lignanos; específicamente los dibenzilbutanos y benzofluranos.	230	Anillo de aromático

Tabla 14. Rangos de absorción UV de las familias de metabolitos secundarios para *I.murucoides*

15.4 Áreas de las heridas por día en mm2 por rata en grupos experimentales

	Área de la herida por día en mm2															
Grupo	Especimen	DÍA 0	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12	DÍA 13	DÍA 14	DÍA 15
	1	87.322	86.27	88.474	85.615												
	2	93.79	93.853	94.085	97.685												
	3	87.273	84.098	85.554	84.087												
	4	101.192	99.79	99.985	98.255												
	5	71.472	63.253	64.975	59.146												
1	6	77.187	73.437	77.295	76.241												
	7	72.613	57.9	55.505	50.772	42.788	37.1	32.793	28.594	28.178							
	8	94.753	93.119	87.462	70.365	62.118	43.217	42.973	38.128	37.264							
	9	92.613	91.648	93.075	90.119	50.193	47.321	42.864	34.19	30.651							
	10	77.695	74.29	74.169	73.241	52.176	45.083	37.175	31.999	22.594							
	11	82.854	81.527	82.945	72.112	48.184	39.219	33.632	29.421	29.018							
2	12	106.329	85.166	63.586	47.48	43.171	34.913	32.475	33.584	33.017							
	13	76.236	61.388	61.746	64.672	47.614	47.486	39.08	34.742	28.112	25.668	25.098	24.838	23.038	22.138	21.238	20.338
	14	77.035	59.9	58.456	50.088	35.285	39.561	33.365	27.228	27.959	24.106	24.035	24.045	24.923	22.353	21.452	20.672
	15	91.133	60.28	52.44	48.146	46.579	37.532	37.709	35.988	28.928	25.771	18.376	15.47	13.968	12.907	12.265	11.766
	16	98.201	97.597	95.318	80.462	62.802	62.641	42.607	42.441	38.174	37.378	36.129	23.452	21.441	20.938	20.439	19.081
	17	86.831	81.281	81.796	74.679	57.244	51.186	49.208	39.164	30.222	29.818	28.198	27.846	25.128	24.028	23.201	22.898
3	18	92.145	89.119	88.256	70.088	65.285	59.121	53.785	40.298	37.449	34.126	30.245	28.016	27.976	25.681	24.523	23.672
	19	80.46	77.412	73.571	77.048												
	20	127.314	107.117	90.685	86.174												
	21	77.953	74.674	74.671	63.293												
	22	58.748	42.444	37.532	38.053												
	23	97.134	94.451	87.411	64.891												
4	24	98.748	92.462	87.512	78.053												
	25	81.591	74.45	57.696	54.243	46.187	39.093	29.217	22.485	19.253							
	26	98.103	74.249	70.406	52.553	45.708	39.13	34.908	31.875	21.63							
	27	79.958	66.792	44.902	45.015	42.059	39.884	25.289	22.137	18.869							
	28	124.289	53.628	74.006	52.013	54.123	43.562	22.353	20.364	17.363							
	29	89.128	86.73	56.232	48.785	42.139	39.783	25.159	22.347	17.129							
5	30	94.289	83.128	70.103	51.153	50.133	42.242	21.333	20.114	17.114							
	31	77.94	50.196	48.129	40.289	29.638	25.384	32.694	22.433	19.246	13.137	11.744	10.738	9.544	9.495	9.518	9.202
	32	102.081	77.92	63.556	54.23	42.024	31.904	27.734	21.124	18.857	17.731	17.193	16.617	15.648	15.297	15.114	15.043
	33	79.15	54.645	42.374	41.358	35.119	35.462	31.734	23.932	19.746	19.422	18.504	17.539	16.296	15.836	15.421	14.841
	34	90.286	60.827	63.21	41.63	33.052	32.732	30.607	24.065	21.774	21.758	19.868	18.76	17.137	16.489	16.13	15.728
	35	89.575	64.325	52.694	48.314	34.239	33.498	31.134	23.132	19.116	19.012	18.504	18.539	18.296	18.036	17.411	16.761
6	36	92.541	62.121	62.221	43.313	35.154	32.245	30.701	24.565	21.474	20.758	19.687	18.173	17.027	16.319	16.022	15.134
	37	97.531	94.103	87.803	89.241												
	38	100.871	91.31	96.387	82.144												
	39	67.624	57.277	52.836	62.362												
	40	84.547	82.37	80.981	79.326												
	41	77.624	72.77	74.86	70.322												
7	42	104.51	102.37	101.81	97.36												
	43	76.236	71.388	71.746	67.672	47.614	47.486	39.08	36.338	27.374							
	44	94.721	80.643	91.738	89.671	79.463	71.214	60.961	45.101	30.836							
	45	86.32	84.85	85.91	79.41	77.89	58.22	32.275	29.571	22.657							
	46	101.981	97.932	97.326	95.472	84.212	81.452	52.627	34.943	27.388							
	47	93.039	82.15	83.191	72.351	67.89	60.32	42.75	32.341	26.657							
8	48	83.981	77.612	77.326	75.472	69.782	65.765	59.356	37.521	30.128							
	49	102.37	101.956	98.78	98.88	82.485	68.967	50.012	44.894	28.755	27.243	23.331	22.312	19.408	18.724	18.975	17.959
	50	83.02	73.475	83.283	82.523	70.209	57.403	50.813	39.816	36.193	29.217	23.764	23.051	21.953	20.588	19.86	18.173
	51	94.246	89.74	82.273	84.392	74.761	70.397	65.648	43.453	29.563	22.584	22.112	22.42	21.114	20.551	20.75	19.005
	52	97.473	72.567	74.639	69.191	62.71	54.239	48.648	37.686	31.372	17.094	14.614	12.269	13.152	13.411	12.037	10.504
	53	92.71	91.66	88.768	88.78	82.215	68.967	51.412	46.154	31.155	28.853	23.351	22.352	19.081	18.984	18.835	17.658
9	54	83.112	79.235	81.263	80.727	71.549	67.438	52.139	36.566	29.193	26.547	25.164	23.653	21.153	20.438	19.316	18.713

Tabla 15. Áreas de las heridas por día en mm^2 por rata en grupos experimentales, los grupos del 1 al 3 pertenecen al grupo control negativo, del 4 – 6 pertenecieron al grupo tratado con cazahuate, y los grupos del 7 al 9 pertenecieron al grupo controlo positivo tratado con el producto comercial Dermatix.

En esta tabla se observó la distribución de las áreas de las heridas y su desarrollo cronológico en un lapso 15 días por grupo experimental, se encontró que el grupo con los valores mayores al inicio de la toma de muestra, así como los menores al termino de 15 días pertenecían al grupo tratado con extracto acuoso de cazahuate, seguido en la distribución de las medias por el grupo control positivo tratado con el producto comercial Dermatix y por ultimo por el control negativo el cual poseía los valores mayores al termino de los 15 días en comparación con los otros dos grupos experimentales.

15.5 Análisis T pareada de los datos estadísticos.

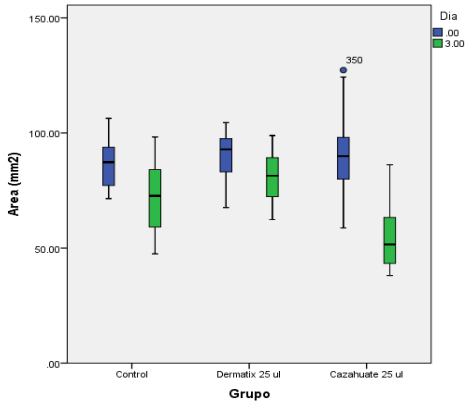


Figura 51. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 3, posterior a la toma de muestra histológica por grupo.

En el gráfico de cajas se observa el comportamiento del área en mm^2 de los tres grupos experimentales comparándose el día 0 (toma de biopsia) con el día 3 de cada grupo, encontrándose en el grupo tratado con Cazahuate y una mayor distribución de las medidas para este grupo en día 0 , concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 50, para el día 3 hay una notable diferencia en la disminución de área de la herida en comparación con los otros grupos experimentales y concentrándose la mayor cantidad de medidas en el cuadril 75 con una mediana más próxima al valor mínimo, seguido por el grupo control negativo y finalmente, el grupo tratado con el producto comercial Dermatix.

Prueba de muestras relacionadas

		Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Día 0 control - Día 3 control	15.19006	16.03208	3.77880	7.21749	23.16262	4.020	17	.001
Par 2	Día 0 Dermatix - Día 3 Dermatix	-9.55794	18.84516	4.44185	-18.92942	-.18647	-2.152	17	.046
Par 3	Día 0 Cazahuate - Día 3 Cazahuate	36.60444	15.49562	3.65235	28.89865	44.31024	10.022	17	.000

Tabla 16. Prueba de T pareada para muestras relacionadas comparando el día 0 con el día 3 por grupo experimental.

Al comparar el desempeño en la cicatrización dentro de cada grupo para identificar cuál es el comportamiento dado e identificar el día con mayor sanación significativa se hizo una prueba T de student para muestras relacionadas de los valores de cada grupo experimental entre los días 0 y 3.

En la tabla se observa que todos los grupos que exhiben diferencias significativas en los niveles de cicatrización entre su mismo grupo encontrándose una diferencia bastante significancia (0.001) para el grupo control y (0.000) al grupo tratado con Cazahuate mientras que el grupo tratado con el producto comercial Dermatix presentó una diferencia significativa (0.45) que son valores menores a 0.05 con un 95% de confianza, confirmando el comportamiento heterogéneo en la cicatrización para todos los grupos.

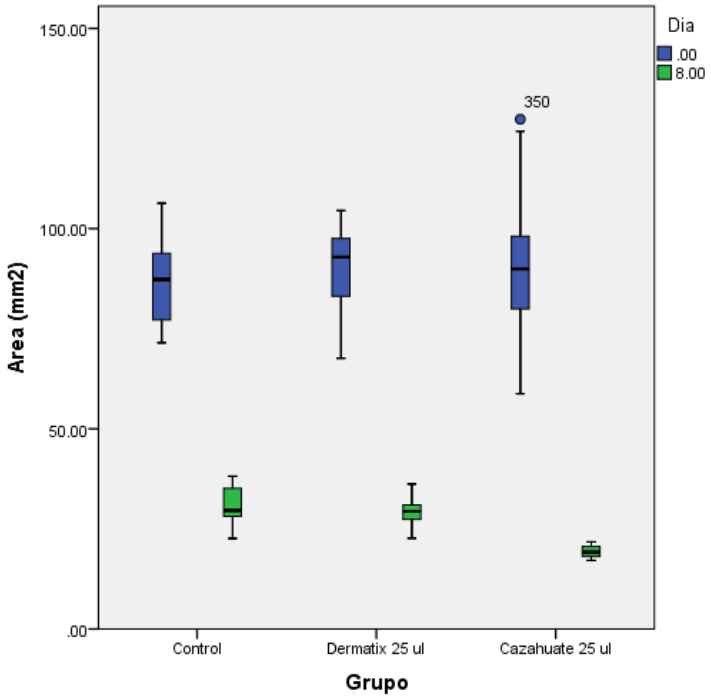


Figura 52. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 8, posterior a la toma de muestra histológica por grupo.

En el gráfico de cajas se observa el comportamiento del arrea en mm^2 de los tres grupos experimentales comparándose el día 0 (toma de biopsia) con el día 8 de cada grupo, encontrándose en el grupo tratado con Cazahuate una mayor distribución de las medidas para este grupo en día 0 , concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 75, para el día 8 hay una notable diferencia en la disminución de área de la herida en comparación con los otros grupos experimentales y concentrándose la mayor cantidad de medidas en el cuadril 75 con una mediana equidistante al valor mínimo del máximo, seguido por el grupo tratado con el producto comercial Dermatix en el cual se concentran la mayor parte de sus datos en el cuadril 50 y, presentando una mediana más próxima del valor inferior con un valor máximo más alejado de esta en comparación con los otros grupos experimentales, finalmente, el grupo control el

cual presenta mayor agrupación de las medias en el cuadril 75 con un rango mayor para el valor mínimo.

Prueba de muestras relacionadas

		Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Día 0 control - Día 8 control	56.12725	12.06444	3.48270	48.46187	63.79263	16.116	11	.000
Par 2	Día 0 Dermatix - Día 8 Dermatix	46.15392	17.47913	5.04579	35.04820	57.25963	9.147	11	.000
Par 3	Día 0 Cazahuate - Día 8 Cazahuate	73.01200	18.39038	5.30885	61.32731	84.69669	13.753	11	.000

Tabla 17. Prueba de T pareada para muestras relacionadas comparando el día 0 con el día 8 por grupo experimental.

Al comparar el desempeño en la cicatrización dentro de cada grupo para identificar cuál es el comportamiento dado e identificar el día con mayor sanación significativa se hizo una prueba T de student para muestras relacionadas de los valores de cada grupo experimental entre los días 0 y 8.

En la tabla se observa que todos los grupos que exhiben diferencias bastante significativas en los niveles de cicatrización entre su mismo grupo encontrándose una diferencia bastante significancia (0.000) para cada grupo experimental, valores menores a 0.05 con un 95% de confianza, confirmando el comportamiento heterogéneo en la cicatrización para todos los grupos.

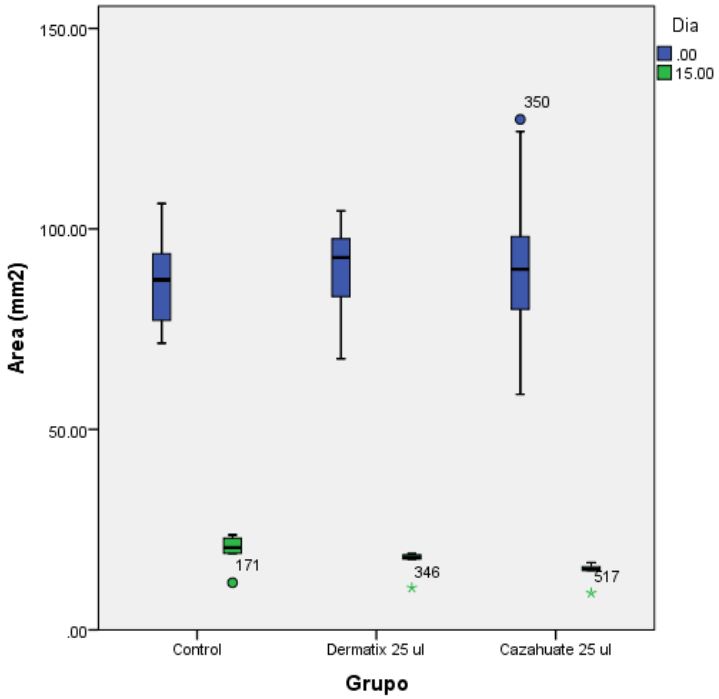


Figura 53. Comparación de las heridas en mm^2 para los tres grupos experimentales del día 0 al día 15, posterior a la toma de muestra histológica por grupo.

En el gráfico de cajas se observa el comportamiento del área en mm^2 de los tres grupos experimentales, comparándose el día 0 (toma de biopsia) con el día 15 de cada grupo, encontrándose en el grupo tratado con Cazahuate una mayor distribución de las medidas para este grupo en día 0 , concentrándose la mayor cantidad de valores en el cuadril 75, para el día 15 hay una mínima diferencia en la disminución de área de la herida en comparación con los otros grupos experimentales y con una mediana más próxima al valor mínimo, con un rango más distante al valor máximo, seguido por el grupo tratado con el producto comercial Dermatix, el cual presentó una mediana más próxima al valor inferior y con un valor máximo más próximo a ésta y presentando los rangos menores en comparación con los otros grupos experimentales, finalmente, el grupo control presentó mayor agrupación de las medias en el cuadril 75 con una mediana más próxima al valor mínimo.

Prueba de muestras relacionadas

		Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Día 0 control - Día 15 control	66.63483	13.10499	5.35009	52.88199	80.38768	12.455	5	.000
Par 2	Día 0 Dermatix - Día 15 Dermatix	66.50283	16.31172	6.65923	49.38473	83.62093	9.987	5	.000
Par 3	Día 0 Cazahuate - Día 15 Cazahuate	75.60800	23.09990	9.43050	51.36614	99.84986	8.017	5	.000

Tabla 18. Prueba de T pareada para muestras relacionadas comparando el día 0 con el día 15 por grupo experimental.

Al comparar el desempeño en la cicatrización dentro de cada grupo para identificar cuál es el comportamiento dado e identificar el día con mayor sanación significativa se hizo una prueba t de student para muestras relacionadas de los valores de cada grupo experimental entre los días 0 y 8.

En la tabla se observa que todos los grupos exhiben diferencias bastante significativas en los niveles de cicatrización entre su mismo grupo; encontrándose una diferencia bastante significancia (0.000) para cada grupo experimental, valores menores a 0.05 con un 95% de confianza, confirmando el comportamiento heterogéneo en la cicatrización para todos los grupos.