50524
35

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

VALORACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DEL CUACHALALATE (*Amphipterygium adstringens*) EN LESIONES CUTÁNEAS DE RATA WISTAR.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

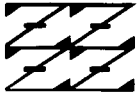
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

JENNY FERNÁNDEZ RESENOS

DIRECTOR: DR. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO

U N A M
FES
ZARAGOZA



LO HUMANO ES
DE NUESTRA OBSESIÓN

MÉXICO, D. F. 2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

JURADO ASIGNADO

Presidente:	QFI. Leonor Aguilar Santelises
Vocal :	Dr. Andrés Navarrete Castro
Secretario :	QFB. Esperanza Jiménez Castañeda
1er. Suplente:	QFB. José Luis Balderas López
2º. Suplente :	M en C. Ma. Teresa Griselda Fuentes Lara

Lugar donde se desarrolló el proyecto:

Laboratorio 126, Conjunto E del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Director:

Dr. Andrés Navarrete Castro _____

Sustentante:

Jenny Fernández Resenos _____

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto DGAPA IN 212300, por la beca y el financiamiento otorgados para la realización de este proyecto.

A la Coordinación de Superación Académica de la Facultad de Química UNAM por medio del Subprograma 127 "Formación Básica en Investigación".

Al M. C. Braulio Martínez Benítez, Médico Residente del Departamento del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, por las facilidades y apoyo brindado para el análisis histopatológico de las muestras biológicas.

Con mucho respeto y admiración Al Dr. Andrés Navarrete Castro por su interés y dedicación en este trabajo, por permitirme formar parte de su equipo de investigadores y lo más importante, por creer en mí.

A Miriam, a Paty y a mis compañeros del Laboratorio 126 por su apoyo y amistad.

A todos mis profesores y a la Universidad Nacional Autónoma de México por todos los conocimientos y oportunidades que me han otorgado.

A mis sinodales por su apoyo y consejos en la revisión de mi trabajo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEDICATORIAS

A Dios por darme la vida, a la familia que tengo y por ser mi anzuelo en esta meta.

A mi Mamá por su amor incondicional, esfuerzos, desvelos y sacrificios entregados a mí y a mis hermanos, pero sobretodo por formar en nosotros personas responsables y sin límites.

A mi Papá por todo su amor, cariño, consejos y esfuerzos, que sin duda han permitido de mí una formación integra en lo personal.

A mis hermanos Arturo y Maribel por su amor, confianza y comprensión brindados siempre y en los momentos difíciles por los que hemos compartido juntos en la vida.

A mi abuelita Beatriz por todo su cariño y por haberme dado a una madre tan valiosa.

A mis Padrinos José Antonio y Hermila por todo su apoyo y cariño que me han entregado durante todo este tiempo, pero principalmente por permitirme formar parte de su familia.

A mis primos Marco Antonio, Isabelle, Bianca y David por la sonrisa y amor que me regalan día con día.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

"Somos lo que hacemos día a día. De modo que la excelencia no es un acto, sino un hábito".

Aristóteles.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii

CONTENIDO

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. FUNDAMENTO TEÓRICO	4
2.1. Matriz Extracelular	4
2.1.1.Colágeno	5
2.1.1.1.Funciones del colágeno	7
2.1.1.2.Biosíntesis del colágeno	8
2.1.2. Elastina	10
2.1.3. Fibronectina	10
2.1.4. Proteoglucanos	12
2.2. Regeneración del tejido conectivo	13
2.2.1.Células lábiles	13
2.2.2.Células en reposo	14
2.2.3.Células permanentes	15
2.3. Factores de crecimiento	15

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.4. Reparación del tejido conectivo 18
2.4.1.Angiogénesis 19
2.4.2.Fibrosis 19
2.4.3.Remodelación de la cicatriz 20

2.5. Proceso de cicatrización de heridas 21
2.5.1.Contracción 23
2.5.2.Reparación 23
2.5.3.Regeneración 25
2.5.4.Tipos de cicatrización 26
2.5.4.1.Cicatrización por primera intención 26
2.5.4.2.Cicatrización por segunda intención 28

2.5.5.Factores que afectan la cicatrización de heridas 31
2.5.5.1.Factores locales 31
2.5.5.2.Factores sistémicos 33

2.6. Tratamiento en la cicatrización de heridas 34
2.6.1.Fármacos 34
2.6.2.Plantas medicinales utilizadas para curar heridas 36
2.6.3.Animales empleados en la curación de heridas 40

2.7. Antecedentes del Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*) 41
2.7.1.Descripción 41
2.7.2.Composición química 41
2.7.3.Actividad farmacológica 44

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 46

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IV.	HIPÓTESIS	47
V.	OBJETIVOS	48
	5.1. Objetivo General	48
	5.2. Objetivos Particulares	48
VI.	MATERIAL Y MÉTODO	49
	6.1. Material biológico	50
	6.2. Material vegetal	50
	6.3. Preparación del extracto metanólico	50
	6.4. Formación de la lesión cutánea	51
	6.5. Tratamiento de las heridas	51
	6.6. Evaluación del efecto cicatrizante del Cuachalalate sobre heridas cutáneas	53
	6.6.1.Determinación de colágeno	53
	6.6.2.Pruebas histológicas	55
	6.7. Análisis estadístico	56
VII.	RESULTADOS	57
VIII.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	79
IX.	CONCLUSIONES	85
X.	PERSPECTIVAS	86
XI.	BIBLIOGRAFÍA	87
XII.	APÉNDICE	96

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
FIGURA 1.	Fases presentes durante el proceso de cicatrización de heridas.	30
FIGURA 2.	Ácido 3α-hidroximasticadienónico.	42
FIGURA 3.	β-sitosterol.	43
FIGURA 4.	Ácido 3-*epi*-oleanólico.	43
FIGURA 5.	Diagrama de flujo de la metodología general.	49
FIGURA 6.	Velocidad de cicatrización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas con Cuachalalate al 2%.	58
FIGURA 7.	Velocidad de cicatrización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate a diferente dosis.	60
FIGURA 8.	Velocidad de cicatrización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate a una dosis de 30 mg.	62
FIGURA 9.	Contenido de hidroxiprolina en tejidos de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate.	64
FIGURA 10.	Curva estándar de Hidroxiprolina.	65
FIGURA 11.	Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 3 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate.	69
FIGURA 12.	Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 3 días de tratamiento con solución salina.	69
FIGURA 13.	Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 6 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate.	70
FIGURA 14.	Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 6 días de tratamiento con solución salina.	70

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PÁGINA

FIGURA 15. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 9 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. 71
FIGURA 16. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 9 días de tratamiento con solución salina. 71
FIGURA 17. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 12 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. 72
FIGURA 18. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 12 días de tratamiento con solución salina. 72
FIGURA 19. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 15 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. 73
FIGURA 20. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 15 días de tratamiento con solución salina. 73

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
TABLA 1.	Tipos de colágeno, estructura y distribución en el tejido.	6
TABLA 2.	Fármacos empleados en la curación de heridas.	34
TABLA 3.	Distribución de los tratamientos en las diferentes dosis del extracto metanólico de Cuachalalate.	52
TABLA 4.	Periodo de epitelización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate	61
TABLA 5.	Valores de la curva estándar de hidroxiprolina.	66
TABLA 6.	Parámetros de la regresión lineal de la curva estándar de hidroxiprolina.	66
TABLA 7.	Análisis de Varianza de la regresión lineal de la curva estándar de hidroxiprolina.	66
TABLA 8.	Fases de la cicatrización del estudio histopatológico después de tres días de tratamiento.	74
TABLA 9.	Fases de la cicatrización del estudio histopatológico después de 6 días de tratamiento.	75
TABLA 10.	Fases de la cicatrización del estudio histopatológico después de 9 días de tratamiento.	76
TABLA 11.	Fases de la cicatrización del estudio histopatológico después de 12 días de tratamiento.	77
TABLA 12.	Fases de la cicatrización del estudio histopatológico después de 15 días de tratamiento.	78

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la evaluación del efecto cicatrizante del Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*), en lesiones cutáneas de rata Wistar. El estudio se llevó a cabo en ratas Wistar adquiridas del Centro Harlan México, de entre 225 y 249 g mantenidos con libre acceso a la comida y al agua. Los animales fueron rasurados en el dorso del lado derecho y se les hizo una herida de 1.5 X 1.5 cm, todo ello bajo previa anestesia con pentobarbital sódico (46 mg/kg de peso) administrada vía intraperitoneal. Cada herida fue tratada con extracto metanólico de *Amphipterygium adstringens* a las dosis de 3, 10, 30 y 100 mg, teniendo como control negativo un grupo que se trató únicamente con solución salina. Para evaluar el efecto cicatrizante del Cuachalalate, de cada herida se midió el porcentaje de contracción para establecer la velocidad de contracción de las heridas, además se cuantificó la cantidad de colágeno a diferentes días de tratamiento y se realizaron cortes histológicos para evaluar las fases presentes en el proceso de la cicatrización.

Dado que al determinar la velocidad de contracción de la herida no se presentó un efecto dependiente de la dosis, no fue posible establecer la DE_{50}. Sin embargo, con la dosis de 30 mg se cuantificó la cantidad de colágeno y se realizaron cortes histológicos para evaluar las fases de la cicatrización a los 3, 6, 9, 12 y 15 días después de que se provocó la lesión cutánea. De los resultados se obtuvo que el Cuachalalate no aumenta la velocidad de contracción de la herida, la cantidad de colágeno y las fases de la cicatrización de herida, sin embargo, al final permite una mejor epitelización y remodelación de la cicatriz, favoreciendo la calidad de ésta y evitando que el tejido quede con marcas antiestéticas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

I. INTRODUCCCIÓN

El uso de las plantas medicinales ha sido muy amplio desde épocas antiguas en las que culturas como la Griega, China, India y la propia cultura Indígena Mexicana empleaban las flores, tallos, hojas y cortezas de las plantas, preparadas en forma de infusiones, tisanas, decocciones, maceraciones, zumos y tinturas, las cuales se usaban como remedios curativos para el hombre y los animales, sin saber a ciencia cierta qué efecto farmacológico provocaban y sí presentaban o no algún efecto adverso o toxicológico (Mezquita, 2000). Así, los antepasados utilizaban las plantas sólo bajo el criterio de intuición y tomando como referencia su propia experiencia, pero en la actualidad estos criterios se han sustituido por constantes estudios científicos que pretenden que el producto a utilizar sea preferentemente conocido en todos sus aspectos, estos estudios demuestran sobradamente la eficacia de las plantas medicinales, así como también demuestran que esta eficacia depende en gran parte de que su uso y preparación sean los correctos (Mantle *et al.*, 2001).

En la actualidad el uso de las plantas medicinales se ha ampliado aún más, según la OMS el 80% de la población mundial continua empleando la medicina tradicional para curar sus enfermedades primarias (Mantle *et al.*, 2001).

En el área de la Dermatología, las plantas medicinales tienen gran relevancia por los efectos benéficos que éstas provocan sobre la piel, así aproximadamente una tercera parte de la medicina tradicional se emplea para el tratamiento de heridas y enfermedades de la piel, comparado con los fármacos modernos, de los cuales sólo del 1 al 3 % se usan para curar estas enfermedades (Mantle *et al.*, 2001).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Entre los efectos benéficos de las plantas sobre la piel se encuentran la rápida curación de heridas creadas después de una cirugía y las que son provocadas por quemaduras, su actividad antifúngica, antiviral, antibacterial y contra infecciones como el acné, herpes y tiña; además de poseer actividad contra enfermedades del sistema inmunológico que afectan la piel como la psoriasis, enfermedades tumorales y cáncer (Mantle *et al.*, 2001).

En el caso de la cicatrización de heridas se sigue un complejo proceso fisiológico en respuesta fundamental del tejido conectivo para restaurarse después de una herida causada en la piel, este proceso puede ser acelerado por los extractos de las plantas medicinales con actividad cicatrizante, incrementando la velocidad de síntesis del tejido conectivo por la estimulación del crecimiento celular del endotelio y de los fibroblastos, con efectos sobre la microcirculación, o ejerciendo su acción por vía antibacterial para prevenir de esta forma infecciones en la piel y aumentar su curación (Mantle *et al.*, 2001).

A pesar del amplio uso y relevancia que tienen las plantas medicinales en la curación de enfermedades de la piel, existe muy poca información científica en la que se establezca la eficacia de los extractos de estas plantas para su control clínico. Por ello, en el siguiente trabajo se evaluó la actividad cicatrizante que tiene el extracto metanólico del Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*) sobre heridas de rata Wistar, ya que esta planta se usa dentro de la medicina tradicional como agente cicatrizante en la curación de heridas, además para el tratamiento del cáncer de estómago, para la úlcera gástrica, el acné y gastritis (Navarrete *et al.*, 1998). Sin embargo, no existe algún informe documentado en el que se indique la eficacia de esta planta en la cicatrización de heridas, por lo que se consideró importante realizar el presente estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

2. 1. Matriz extracelular

La matriz extracelular (MEC), es un complejo conjunto de macromoléculas que se encuentran por debajo de los epitelios, además de rodear a las células del tejido conectivo (Rubin y Farber, 1992).

Debido a su estructura y composición, cumple con una función importante en la curación de heridas a través de sus propiedades quimiotácticas, opsónicas y adherentes, así la fuerza de la herida y las propiedades de la cicatriz dependen de su propia composición. Además, la MEC suministra turgencia a los tejidos blandos y rigidez a los huesos, elasticidad a la piel y vasos sanguíneos; proporciona sustratos para la adhesión celular y regula de manera decisiva el crecimiento, movimiento y diferenciación de las células vivientes que contiene (Chandrasoma y Taylor, 1994; Meisenberg y Simmons, 1998).

La MEC está constituida por varios tipos de proteínas estructurales fibrosas y por una matriz intersticial compuesta a su vez de glucoproteínas adhesivas integradas en un gel de proteoglucanos y glucosaminoglucanos (Meisenberg y Simmons, 1998). Las proteínas fibrosas de las que está constituida la MEC son el colágeno y la elastina. La matriz intersticial forma una membrana basal cuyo arreglo al azar presente en el tejido conectivo se convierte en una disposición organizada alrededor de las células epiteliales, endoteliales y del músculo liso. Esta membrana basal orienta la polaridad de la célula, necesaria para la renovación ordenada del tejido epitelial (Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.1.1. Colágeno

Es la principal proteína presente en el tejido conectivo, huesos y cartílago, el cual se encuentra en un 25% en el cuerpo de un adulto y de un 15 a 20% en el cuerpo de un niño (Meisenberg y Simmons, 1998).

Los colágenos están constituidos por una larga familia de proteínas con cerca de 20 miembros que poseen propiedades en común (Rubin y Farber, 1992). Estas proteínas consisten en tres polipéptidos, los cuales forman una triple hélice característica en forma de cuerda con diferente estructura supermolécular. Las cadenas individuales de polipéptidos pueden trenzarse en forma muy apretadas debido a que cada una posee glicinas presentes en cada tercera posición, además de ser ricos en dos aminoácidos hidroxilados, la hidroxiprolina e hidroxilisina (Kumar *et al.*, 1999).

Existen más de 30 cadena distintas de polipéptidos que forman aproximadamente 18 tipos diferentes de colágeno, algunos de los cuales pueden ser únicos para células y tejidos específicos (Kumar *et al.*, 1999). Cada polipéptido se designa con la letra griega α y un número arábigo después de ésta, que caracteriza a las cadenas constituyentes del trímero. Por ejemplo, el colágeno tipo I consiste en dos cadenas $\alpha 1$ y una cadena $\alpha 2$. Los distintos trímeros se designan con números romanos y representan los tipos de colágeno. Las cadenas de los distintos colágenos se distinguen poniendo el número romano del respectivo tipo entre paréntesis después del número arábigo, como $\alpha 1$(I) y $\alpha 1$(III) (Rubin y Farber, 1992). En la siguiente tabla se resumen las características estructurales, la composición y la distribución de los distintos tipos de colágeno.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1. Tipos de colágeno, estructura y distribución en el tejido (Meisenberg y Simmon, 1998).

TIPO	COMPOSICIÓN MÁS COMÚN	FORMA ESTRUCTURAL	DISTRIBUCIÓN EN EL TEJIDO
I	$[\alpha_1(I)]_2$, $\alpha_2(I)$	Fibras de 67 nm	Colágeno más abundante en el tejido conectivo, huesos.
II	$[\alpha_1(II)]_3$	Fibras de 67 nm	Cartílago, humor vítreo.
III	$[\alpha_1(III)]_3$	Fibras de 67 nm	Tejido fetal, piel, vasos sanguíneos, útero, intestino, tendones.
IV	$[\alpha_1(IV)]_2$, $\alpha_2(IV)$	Fibras globulares C-terminales	En todas las membranas basales.
V	$[\alpha_1(V)]$, $\alpha_2(V)$	Fibras de 67 nm	Se presenta en menor cantidad en los tejidos intersticiales.
VI	$\alpha_1(VI)$, $\alpha_2(VI)$, $\alpha_3(VI)$	Fibras N- y C-terminales	Abunda en la mayoría de los tejidos intersticiales.
VII	$[\alpha_1(VII)]_3$	Dímeros	Fibrillas de fijación.
VIII	$[\alpha_1(VIII)]_2$, $\alpha_2(VIII)$	Hélice corta no fibrilar	Formado por células endoteliales.
IX	$\alpha_1(IX)$, $\alpha_2(IX)$, $\alpha_3(IX)$	Con enlaces sulfato	Sobre superficies del colágeno tipo II, en fibrillas de cartílago.
X	$[\alpha_1(X)]_3$	Similar al tipo VIII	Cartílago calcificado.
XI	$\alpha_1(XI)$, $\alpha_2(XI)$, $\alpha_1(III)$	Fibras de 67 nm	Cartílago.
XII	$[\alpha_1(XII)]_3$	Fibras globulares	Sobre superficies fibrosas del colágeno tipo I.
XIII	$[\alpha_1(XIII)]_3$	Con membrana transpuesta	Menor colágeno en la piel y el intestino.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1. Tipos de colágeno, estructura y distribución en el tejido (continuación).

TIPO	COMPOSICIÓN MÁS COMÚN	FORMA ESTRUCTURAL	DISTRIBUCIÓN EN EL TEJIDO
XIV	$[\alpha_1(XIV)]_3$	No fibrilar	Sobre superficies fibrosas del colágeno tipo I.
XV	$[\alpha_1(XV)]_3$	No fibrilar	En algunos tejidos.
XVI	$[\alpha_1(XVI)]_3$	No fibrilar	Sobre superficies de colágeno.
XVII	$[\alpha_1(XVII)]_3$	Con membrana transpuesta	En piel.
XVIII	$[\alpha_1(XVIII)]_3$	No fibrilar	Hígado, riñón.
XIX	$[\alpha_1(XIX)]_3$	No fibrilar	Sobre superficies fibrosas del colágeno tipo I.

2.1.1.1. Funciones del colágeno

La función más conocida del colágeno es el sostén fisiológico. El colágeno tipo I predomina en órganos que requieren fuerza tensional, como el tendón y los huesos, en tanto que el tipo III se encuentra en órganos que poseen cierta plasticidad, como los vasos sanguíneos, útero, tubo digestivo y dermis. Los colágenos se fijan a las superficies celulares y modulan la morfogénesis, quimiotactismo, adhesión y agregación plaquetaria, unión celular y fenotipo celular (Rubin y Farber, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.1.1.2. Biosíntesis del colágeno

La síntesis del colágeno está dada por los fibroblastos en forma de un precursor llamado tropocolágeno ó precolágeno, que está constituido por 3 cadenas α separadas envueltas entre sí para formar una triple hélice apretada (Chandrasoma y Taylor, 1994).

Las cadenas polipeptídicas individuales se sintetizan en ribosomas unidos a la membrana y en las cisternas del retículo endoplásmico rugoso, las tres cadenas pro-α interaccionan para formar una molécula de procolágeno. Al igual que otras proteínas estas cadenas de precolágeno contienen en el extremo aminoterminal, unas secuencias de señal que son separadas poco después de la traducción. Las cadenas de precolágeno α tiene tres dominios principales: la cadena α, el péptido aminoterminal y el péptido carboxiterminal (Rubin y Farber, 1992).

Antes de la secreción de la molécula de colágeno al exterior de la célula, tiene lugar la hidroxilación de la prolina y lisina, formando la 4-hidroxiprolina, 3-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina por diferentes enzimas que requieren vitamina C para ser activadas, en ausencia de esta vitamina (escorbuto) el proceso de cicatrización puede retardarse e incluso ser inadecuado. La hidroxiprolina, en particular se requiere para estabilizar la triple hélice, sin este aminoácido la triple hélice se desnaturaliza espontáneamente a temperatura corporal y la mayoría del colágeno anormal es degradado intracelularmente debido a la falta de su forma estructural. El resultado de ello es una hemorragia generalizada, pérdida de dientes, lenta cicatrización de heridas, ruptura del tejido cicatrizado y otras patologías del tejido conectivo (Meisenberg y Simmon, 1998).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Algunos residuos de 5-hidroxilisina experimentan una glucosilación por la enzima glucosil transferasa, en la que se emplean como precursores uridina difosfato galactosa (UDP-galactosa) y uridina difosfato glucosa (UDP- glucosa), los cuales son metabolitos intermediarios provenientes de la ruta de conversión de la D-galactosa en D-glucosa. Posterior a las reacciones de hidroxilación y glucosilación, se forma la triple hélice unida por puentes disulfuro en la dirección C–N terminal. Una vez formado el precolágeno helicoidal, es secretado del interior de la célula y las terminaciones N y C son removidas por proteasas extracelulares ensamblando así las moléculas de tropocolágeno dentro de las fibras dando lugar al colágeno, que se une por enlaces covalentes para aumentar su fuerza máxima a la tensión debida a la presencia de algunas enzimas como la lisis oxidasa, metaenzima que requiere de cobre como cofactor. La quelación de cobre por los nitrilos (trastorno tóxico llamado latirismo, o en enfermedades hereditarias del metabolismo de cobre), reducen la actividad de la lisis oxidasa y conducen a la formación de fibras colágenas con enlaces cruzados defectuosos que carecen de fuerza tensil (Rubin y Farber, 1992).

La síntesis del colágeno se incrementa y recombina constantemente durante la curación de una herida, ya que los fibroblastos migran al sitio de la lesión para comenzar la síntesis abundante de colágeno, así una cicatriz es rica en colágeno. Lo mismo pasa cuando se presenta una infección bacterial en el tejido, la síntesis del colágeno se estimula por este fenómeno evitando que la infección se complique (Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.1.1. Elastina

La elastina, es otro componente de la matriz extracelular, que junto con el colágeno forman las proteínas estructurales fibrosas de la MEC.

Esta glucoproteína es la encargada de proporcionarle a los tejidos elasticidad y capacidad de retroceder después de un estiramiento transitorio provocado en el tejido conectivo.

Al igual que el colágeno, la elastina es rica en algunos aminoácidos, ya que el 31% de su composición consiste en glicina, el 22% en alanina, el 11% en prolina y algunos aminoácidos hidroxilados como la 4-hidroxiprolina, que también se encuentran presentes pero sólo en el 1%. Las moléculas de elastina están unidas entre sí por enlaces cruzados y forman una extensa red. A diferencia de otras proteínas, la elastina no adquiere un plegamiento definitivo sino que oscila entre diferentes estados para formar enrollamientos aleatorios. Esta estructura de la elastina enrollada al azar con enlaces cruzados es lo que determina la capacidad de la red para estirarse y retroceder (Meisenberg y Simmons, 1998).

2.1.2. Fibronectina

La fibronectina, es una glucoproteína adhesiva que forma parte de la matriz intersticial y que junto con las proteínas estructurales fibrosas constituyen a la matriz extracelular.

Esta glucoproteína es la más abundante en el tejido conectivo, la cual se encuentra en dos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

formas principales: la fibronectina plasmática y la fibronectina histica (Farber y Rubin, 1992). La fibronectina está formada por dos polipéptidos similares, cada uno con aproximadamente 2500 aminoácidos, los cuales están unidos por enlaces disulfuro con terminaciones carboxiladas. La fibronectina plasmática es un dímero, pero la histica es una mezcla de dímeros y polímeros más grandes, sin embargo, las dos formas de fibronectina derivan de un solo gen. La primera de ellas, se sintetiza y secreta por los hepatocitos. La mayoría de las células de origen mesenquimático, incluso fibroblastos y células endoteliales, secretan fibronectina histica, que constituye una de las primeras macromoléculas estructurales que se depositan durante el desarrollo embrionario (Meisenberg y Simmons, 1998). La molécula de fibronectina tiene dominios especializados con dominios de fijación específicos que le permiten fijarse a los colágenos, proteoglucanos, glucosaminoglucanos, fibrinógeno, fibrina, superficies celulares, bacterias y DNA. Esta propiedad que posee la fibronectina de fijarse a otros componentes de la matriz celular le permiten integran y unir al tejido conectivo mediante la unión tripéptido arginina-glicina-ácido aspártico (Kumar *et al.*, 1999). Además, mediante la acción de la transglutaminasa (factor XIII de la cascada de coagulación), la fibronectina entabla enlaces cruzados covalentes con ella misma, con el fibrinógeno, fibrina y colágeno, esta formación de enlaces cruzados es muy importante en las fases iniciales de la reparación de las heridas (Rubin y Farber, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.1.3. Proteoglucanos

Los proteoglucanos, son moléculas formadas por largas cadenas no ramificadas de polisacáridos, componentes principales de la matriz extracelular. Están constituidos por polímeros hidrocarbonados llamados glucosaminoglucanos debido a que uno de sus residuos glucídicos de la unidad disacárido repetitiva siempre es una hexosa aminada (Kumar *et al.*, 1999). Entre los principales glucosaminoglucanos se encuentran el sulfato de dermatán, el sulfato de heparán y el ácido hialurónico, que con excepción a éste último, todos se hallan unidos por enlaces covalentes a un centro proteico, en este caso son llamados proteoglucanos. También, son muy hidrófilicos y forman geles hidratados incluso a bajas concentraciones (Rubin y Farber, 1992).

La función principal de los proteoglucanos es la de contribuir a la regulación de la estructura y permeabilidad de la matriz extracelular, que con frecuencia están unidos al colágeno, la elastina y fibronectina, participando de esta forma en la organización de la MEC (Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. 2. Regeneración del tejido conectivo

Después de una lesión ocasionada en el tejido conectivo, comienzan a darse una serie de procesos que limitan el daño y preparan las células sobrevivientes para replicarse y repararse de tal lesión. En general, la replicación celular y el número de éstas en cualquier tejido es una función acumulativa de las tasas de entrada y salida de nuevas células en la población. Así, el incremento del número de células puede darse por la proliferación, disminución de la muerte o diferenciación celular.

La producción y proliferación celular está regulada por factores bioquímicos que se encuentran en el microambiente local de las células, y que pueden aumentar o inhibir el crecimiento celular. Este crecimiento se logra acortando la duración del ciclo celular o reduciendo la tasa de pérdida de células pero el control más importante es inducir a las células en reposo (G_0) para que entren al ciclo celular.

El ciclo celular consta de las fases G_1 (presintética), S (síntesis de DNA), G_2 (premitótica) y M (mitótica). De acuerdo a estas fases y con base a su propiedad regenerativa, las células del cuerpo se dividen en tres tipos: células lábiles, células en reposo y células permanentes.

2.2.1. Células lábiles

Son células parenquimatosas que se encuentran en división continua, se producen por el ciclo celular de una mitosis y proliferan durante toda la vida reemplazando a las células que mueren en forma continua. Entre estas células lábiles, se incluyen muchos epitelios

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

como las superficies escamosas estratificadas de la piel, cavidad bucal, vagina y cuello uterino; el epitelio cuboideo de los conductos que drenan órganos exócrinos (p. ej. glándulas salivales, páncreas, conductos biliares); el epitelio columnar del conducto gastrointestinal, útero y trompas de Falopio. Las células hematopoyéticas de la médula ósea reemplazan también los elementos celulares de la sangre proliférica circulante.

Los tejidos constituidos por células lábiles se regeneran después de la lesión, siempre que queden suficientes células precursoras (Chandramosa y Taylor, 1994; Kumar *et al.*, 1999).

2.2.2. Células en reposo

Son células estables que generalmente muestran un bajo nivel de replicación. Este tipo de células se encuentran en estado fisiológico G_0, pero después de pérdidas celulares pueden entrar en la fase G_1 mediante un estímulo apropiado que produce un rápido incremento en la división y reconstitución del tejido lesionado. Lo que determina la capacidad del órgano para regenerarse es el potencial celular para replicarse y no la cantidad real de mitosis, es por ello que su periodo de vida es muy largo. Un ejemplo de la replicación y crecimiento de este tipo de células, es el caso del hígado, el cual se regenera después de una hepatectomía, una lesión tóxica, viral o química. En la categoría de las células estables se incluyen las células parenquimatosas del hígado, riñón y páncreas; además las células endoteliales vasculares y células mesenquimatosas como fibroblastos y músculo liso (Rubin y Farber, 1992; Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.2.3. Células permanentes

Son células que no se dividen, salen del ciclo celular en algún punto del desarrollo intrauterino y no pueden sufrir nuevas divisiones mitóticas en la vida postnatal. Este tipo de células incluye a las células nerviosas, células musculares cardiacas y células del cristalino. Si se destruyen, estas células no son reemplazadas, por lo tanto su daño es irreversible (Rubin y Farber, 1992; Kumar *et al.*, 1999).

2.3. Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son polipéptidos, que pueden actuar sobre varios tipos de células o pueden tener una población blanco limitada. Además de promover el crecimiento, estos mediadores también pueden influir en la locomoción, contracción y diferenciación de las células, y todos poseen capacidad para reparación y cicatrización de heridas. Los diferentes factores de crecimiento pueden actuar en las vías endocrinas, parácrina o autócrina, pero en tejidos conectivos es muy común que la reparación y cicatrización de heridas se logre gracias a células en un tejido que secretan un factor regulador de la actividad de células adyacentes (estimulación parácrina). Las células que poseen receptores para sus propios factores producidos de manera endógena también muestran estimulación autócrina, importante en la hiperplasia epitelial compensatoria en los sitios de lesión. Aunque hay un amplio conjunto de factores de crecimiento que actúan y participan

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

en los procesos patológicos importantes, a continuación se presentan solo aquellos que están implicados en la mediación de angiogénesis, migración de fibroblastos, proliferación y depósito de colágeno en las heridas durante la cicatrización (Kumar *et al.*, 1999).

- **Factor de crecimiento epidérmico (EGF),** es mitogénico para algunas células epiteliales y fibroblastos. Estimula la división celular uniéndose a receptores tirosina cinasa sobre la memebrana de la célula (c-erb B1), seguida de fosforilación y otros sucesos activadores (Kumar *et al.*, 1999).

- **Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF),** es un heterodímero altamente catiónico con cadenas A y B. Aunque se libera a partir de gránulos α de las plaquetas después de activación, también se produce en macrófagos activados, células endoteliales y de músculo liso y varios tumores. Este factor induce la migración y proliferación de fibroblastos, células de músculo liso y monocitos, pero también tiene otras propiedades proinflamatorias. Se une a dos tipos de receptores específicos (α y β) que muestran actividad intrínseca de proteína cinasa (Kumar *et al.*, 1999).

- **Factores de crecimiento de fibroblastos (b-FGF),** pertenecen a una familia de polipéptidos que se unen firmemente a heparina y otras moléculas aniónicas mostrando una fuerte afinidad por membranas basales. En particular, este factor tiene la capacidad para inducir todos los pasos necesarios para la neoformación de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

vasos sanguíneos por macrófagos activados y otras células (Kumar *et al.*, 1999).

- **Factor β transformador del crecimiento (TGF - β),** se produce de varios tipos de células en forma inactiva, como las plaquetas, endotelio, células T y macrófagos activados y debe ser desdoblada mediante proteólisis para convertirse en una molécula funcional. Este factor estimula la quimiotaxia de fibroblastos y la producción de colágeno y fibronectina por las células, además, inhibe simultáneamente la descomposición de la matriz extracelular por metaloproteínas (Kumar *et al.*, 1999).

- **Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF),** constituye una serie de glucoproteínas diméricas con homología parcial para el PDGF. Este factor promueve la angiogénesis en el desarrollo embrionario normal, en la cicatrización de heridas y en los estados de inflamación crónica, y provoca un incremento notable de permeabilidad vascular, produciendo un aumento del depósito de proteínas plasmáticas en la matriz extracelular, y suministra un estroma provisional para fibroblastos y células endoteliales en crecimiento (Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.4. Reparación del tejido conectivo

La reparación del tejido al presentarse una herida se inicia con la inflamación provocada por la llegada de células provenientes de la sangre como neutrófilos, macrófagos y linfocitos al sitio de acción, más fibroblastos que llegan a el área de la lesión implicando dos procesos separados pero similares: 1) regeneración del tejido lesionado por células parenquimatosas del mismo tipo, y 2) sustitución por tejido conectivo (fibroplasia), que produce una cicatriz permanente (Rubin y Farber, 1992).

Al presentarse una lesión grave o persistente e inflamación con daño a las células parenquimatosas, la reparación no siempre se da por la sola regeneración de estas células. Bajo estas condiciones, las células parenquimatosas no regeneradas comienzan a ser reemplazadas por fibroblastos proliferantes y células endoteliales antes de 24 horas. Después de 3 a 5 días, se establece un tejido de granulación indicador de cicatrización. Este término de tejido de granulación, se refiere al aspecto burdamente granular, blanco y de color rosa como el que se observa debajo de la costra de una herida en la piel. Su aspecto histológico se caracteriza por proliferación de fibroblastos, de nuevos capilares finos y de una capa delgada en una matriz extracelular laxa. De esta forma, el tejido de granulación se acumula progresivamente en una MEC del tejido conectivo y con el tiempo produce fibrosis o cicatrización. Durante el proceso de reparación del tejido conectivo, se dan tres pasos: el primero conduce a la formación de nuevos vasos sanguíneos, fibrosis y maduración y organización de la cicatriz (Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.4.1. Angiogénesis

Este proceso se denomina también neovascularización, y consiste en la formación de vasos nuevos en el sitio donde evoluciona un proceso de reparación originado por la gemación de los vasos ya existentes. En el desarrollo de un nuevo vaso capilar ocurren cuatro etapas generales: primero, la descomposición proteolítica de la membrana basal de los vasos progenitores, lo que permite la formación de un retoño capilar; segundo, la migración de las células endoteliales debido al estímulo angiogénico; tercero, la proliferación de células endoteliales después de las células migrantes; y cuarto, maduración de células endoteliales organizadas en tubos capilares. Estos nuevos vasos dejan escurrir líquido debido a las uniones interendoteliales que aún no terminan de formarse, este escurrimiento explica la presencia de edemas en el tejido de granulación aún después de que la respuesta inflamatoria se ha resuelto (Dvorak, 1995).

2.4.2. Fibrosis

También llamado fibroplasia, este proceso ocurre sobre el armazón de los nuevos vasos del tejido de granulación y de la matriz extracelular laxa que se desarrolla inicialmente en el sitio de reparación. Este proceso ocurre en dos pasos: 1) migración y proliferación de fibroblastos en el sitio de la lesión, y 2) depósito de la matriz extracelular por los fibroblastos. La migración y estimulación de fibroblastos está controlada por los diferentes

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

factores de crecimiento, originados del endotelio activado y de las células inflamadas como los macrófagos, que son elementos celulares importantes del tejido de granulación encargados de la depuración de residuos extracelulares, fibrinas y otro material extraño en el sitio de la lesión; también elaboran PDGF, b-FGF y TGF-β, promoviendo a la migración y proliferación de fibroblastos. Si está presente el estímulo quimiotáctico apropiado, también pueden presentar linfocitos, y las células cebadas aumenta su número; cada una de éstas contribuye de manera directa e indirecta a la proliferación y activación de fibroblastos (Kumar *et al.*, 1999).

Cada vez que la cicatrización avanza, el número de fibroblastos proliferantes y de vasos nuevos disminuye; sin embargo, los fibroblastos progresivamente asumen su fenotipo más sintético, y por lo tanto incrementan el depósito de la matriz extracelular (Postlethwaite, 1995).

2.4.3. Remodelación de la cicatriz

Los componentes de la matriz extracelular se degradan por metaloproteínas, las cuales dependen de iones de zinc para que ejerzan esta acción. Estas enzimas incluyen colagenasa intersticial, que desdobla los colágenos similares tipos I, II y III; gelatinasas o colagenasas tipo IV, que descomponen al colágeno amorfo y fibronectina; y estromelisinas, que catabolizan a varios de los componentes de la MEC, incluyendo proteoglucanos, laminina, fibronectina y colágeno amorfo. Células como fibroblastos, macrófagos, neutrófilos, células

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

sinoviales y algunas células epiteliales producen a estas enzimas, y su síntesis y secreción está regulada por factores de crecimiento, citocinas y estímulos fagocíticos. Dado que las metaloproteinasas causan daño en los tejidos, su actividad debe estar estrictamente regulada, por lo que de forma típica son elaboradas como precursores inactivos (cimógenos) que primero deben ser activados mediante clorhidratos o proteasas que probablemente sólo se presentan en los sitios de lesión. Estas enzimas pueden ser inactivadas por inhibidores tisulares específicos de metaloproteínas.

En sitios de inflamación y cicatrización de heridas las metaloproteinasas ejercen su acción, puesto que la descomposición del colágeno ayuda al desdoblamiento de los sitios lesionados y también a la remodelación del tejido conectivo necesaria para reparar el defecto. Sin embargo, durante la cicatrización de las heridas las colagenasas y sus inhibidores deben ser regulados en el espacio y en el tiempo (Kumar *et al.*, 1999).

2.5. Proceso de cicatrización de heridas

La cicatrización de heridas es un complejo proceso fisiológico en respuesta fundamental del tejido conectivo para restaurarse después de una herida causada en la piel.

Estos eventos de cicatrización involucran una serie de pasos o estados de migración, proliferación, adhesión y diferenciación de las células del tejido. El primer paso de la cicatrización de las heridas está dado por la inducción de una respuesta inflamatoria aguda por la lesión inicial; segundo, regeneración de las células parenquimatosas y una

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

neovascularización; tercero, migración y proliferación de las células parenquimatosas y de tejido conectivo; cuatro, formación de una gran matriz provisional de proteoglucanos y glucosaminoglucanos, seguido por una granulación del tejido y un aumento en la síntesis del tejido conectivo, proteínas, colágeno y elastina provocando una mayor fuerza o aceleración en la cicatrización y una epitelización marcada; cinco, remodelación de los elementos parenquimatosos para reestablecer la función del tejido, y seis, remodelación del tejido conectivo para conferir resistencia a la herida (Chithra *et al.*, 1998; Saringat y Sheikh, 2000; Shukla *et al.*, 1999).

En la curación de heridas, se da un reemplazo de tejido muerto por tejido vivo, las células muertas se eliminan de la lesión por medio de un mecanismo denominado disolución o limpieza de la herida, realizado por las células fagocitarías de la respuesta inflamatoria, formándose un exudado rico en fibrina y fibronectina. Después de la fase inflamatoria, los mecanismos de contracción, reparación y regeneración, completan el proceso de curación. En la mayoría de los casos operan los tres mecanismos al mismo tiempo; así, en un herida cutánea, parte de la solución de continuidad es subsanada mediante contracción de la herida, otra parte por tejido reparativo o de granulación y otra más por regeneración de células epiteliales (Rubin y Farber, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.5.1. Contracción

Proceso conocido también como retracción, el cual consiste en la reducción mecánica del tamaño de la herida por acción de los miofibroblastos. En algunos casos la retracción reduce el tamaño del defecto original hasta en un 70%. Por ello, la curación se produce más rápidamente porque sólo hay que reemplazar una tercera parte a la mitad del defecto original. Si se impide la retracción, quedan cicatrices grandes antiestéticas, pero por lo contrario, si ésta es excesiva se pueden producir contracturas.

Los miofibroblastos aparecen en la herida a los 2 o 3 días después de producirse la lesión, migran hacia la herida y su contracción activa reduce el tamaño de la solución de continuidad, estas células poseen rasgos intermedios entre los del fibroblasto y la célula muscular lisa (Rubin y Farber, 1992).

2.5.2. Reparación

Es el reemplazo de tejido muerto por tejido de granulación, que eventualmente habrá de madurar a tejido cicatrizal. En las heridas en que sólo se afecta el epitelio de revestimiento se les llama erosiones. Este tipo de lesiones se curan exclusivamente por la proliferación de células epiteliales circundantes, en las heridas en las que la lesión llega al tejido conectivo, la dermis de la piel se activa y prolifera dando origen a fibroblastos activos. Estas células del tejido conectivo sintetizan y secretan componentes de la matriz extracelular como fibronectina, proteoglucanos y colágeno tipo I y III (Chandrasoma y Taylor, 1994).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Después del segundo y tercer día de que se produjo la lesión, comienza una proliferación vascular que se extiende por varios días. Las células endoteliales próximas a la lesión se dividen y forman unos brotes sólidos a partir de los vasos ya existentes. Con mucha frecuencia estos brotes sobresalen de la superficie de la herida en forma de pequeños gránulos rojos, formando el tejido de granulación (Chandrasoma y Taylor, 1994; Rubin y Farber, 1992).

La fase inicial de la reparación del tejido, se caracteriza por la presencia de células inflamatorias y abundante acumulación de fibroblastos y capilares. Los fibroblastos secretan activamente componentes de la matriz extracelular, en primer lugar el ácido hialurónico y posteriormente proteoglucanos sulfatados. Debido a que estos últimos son muy hidrofílicos, su acumulación contribuye a crear un aspecto edematoso de las heridas, y junto con la síntesis y secreción de proteoglucanos se produce fibronectina (Rubin y Farber, 1992).

La síntesis de colágeno por parte de los fibroblastos comienza a las 24 horas, pero su presencia y depósito no es evidente en los tejidos lesionados hasta los 4 días de producida la lesión. Al principio predomina el colágeno tipo III, pero a los 7 y 8 días se destaca el tipo I, que eventualmente se convierte en el colágeno principal del tejido cicatrizal maduro (Chandrasoma y Taylor, 1994; Rubin y Farber, 1992).

Después de las etapas iniciales de la reparación se establece una fuerza tensional, los capilares se reabsorben y comienza la movilización del tejido. Por lo tanto, es necesario que las fibras y haces de colágeno se reorienten de acuerdo con las nuevas líneas de fuerzas. Esta reorientación se lleva a cabo mediante la eliminación de las fibras colágenas que fueron depositadas al inicio. A pesar de la gran actividad que presenta el colágeno en una herida,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

éste se acumula a velocidad constante y, generalmente llega a un máximo después de 2 a 3 meses de ocurrida la lesión. La fuerza tensional de la herida sigue aumentando meses después de que el contenido de colágeno ha alcanzado su máximo, y a medida que éste aumenta muchos de los vasos neoformados desaparecen. Este proceso vascular o desvascularización que tiene lugar en pocas semanas forma un tejido muy vascularizado en una cicatriz avascular pálida (Chandrasoma y Taylor, 1994; Rubin y Farber, 1992).

2.5.3. Regeneración

La regeneración es la sustitución de tejido y células nuevas. Si el tejido conectivo subyacente no está lesionado, el daño del epitelio de revestimiento superficial se repara con facilidad mediante la proliferación de células epiteliales en el borde de la herida. Estas células se desprenden de la membrana basal subyacente y migran hacia el área dañada pero sin volver a dividirse. La división sólo ocurre en las células que están un poco atrás del borde de avance. Una vez que la superficie del tejido se ha cubierto por completo por tejido nuevo, las células recuperan su forma habitual y se adhieren a la membrana basal, la diferenciación continúa, y el epitelio recupera su espesor normal. Se considera que en este proceso de regeneración del tejido conectivo, intervienen diversos factores proliferativos, entre los cuales se encuentran principalmente factores específicos del encéfalo, la epidermis, los macrófagos, los nervios y las plaquetas, además, intervienen también hormonas tales como la insulina y el glucagón, e incluso los componentes de la matriz extracelular como la

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

fibrina y laminina (Rubin y Farber, 1992).

2.5.4. Tipos de cicatrización

La curación de heridas se clasifican en dos tipos: cicatrización por primera y segunda intención, esto se debe a la forma y tamaño de herida que puede presentarse en el tejido conectivo.

2.5.4.1. Cicatrización por primera intención

Las heridas por incisiones y laceraciones limpias no infectadas, en las cuales los bordes de la herida están en posición cercana por suturas quirúrgicas, se reparan por este tipo de cicatrización por primera intención (Chandrasoma y Taylor, 1994).

La incisión sólo causa alteración focal de la continuidad de la membrana basal epitelial y muerte de relativamente pocas células epiteliales y de tejido conectivo. Como resultado, predomina la regeneración epitelial sobre la fibrosis. El pequeño espacio de la incisión rápidamente se llena con fibrina de la sangre coagulada; la deshidratación de la superficie produce una costra para cubrir la piel en un plazo de 24 horas, y proteger de agentes infecciosos el sitio de cicatrización (Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A las 24 horas después de producida la lesión, se observan neutrófilos en el borde de la incisión, que se desplazan hacia el coágulo de la fibrina y que con frecuencia son desplazados por macrófagos al tercer día. Las células basales del borde cortado de la epidermis comienzan a mostrar incremento de la actividad mitótica. Del primero al segundo días, las células epiteliales de ambos bordes comienzan a desplazarse y proliferar a lo largo de la dermis, depositando componentes de la membrana basal conforme avanzan. Las células se encuentran en la línea media por debajo de la superficie de la costra, produciendo una capa epitelial delgada pero continúa (Kumar *et al.*, 1999; Rubin y Farber, 1992).

Del segundo al tercer día, la incisión es invadida por tejido de granulación. Ahora son evidentes las fibras de colágeno en los bordes de la incisión, pero están orientadas verticalmente y no unen los bordes. Continúa la proliferación de células epiteliales, produciendo una capa epidérmica gruesa que cubre la herida. Al cuarto y quinto día, la neovascularización alcanza su máximo conforme el tejido de granulación llega al espacio de la incisión. La epidermis va recuperando su espesor normal a medida que la diferenciación de las células de la superficie produce una estructura epidérmica madura con queratinización de la superficie. Por la segunda semana, se da una acumulación continua de colágeno y proliferación de fibroblastos, el infiltrado leucocitario, edema y el incremento de la vascularización disminuyen sustancialmente, comienza el prolongado proceso de blanqueamiento efectuado por el depósito creciente de colágeno dentro de la cicatriz de la incisión y la regresión de los conductos vasculares. Al primer mes de la herida, la cicatriz incluye tejido conectivo celular nuevo y éste se encuentra más reconstruido (Kumar *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.5.4.2. Cicatrización por segunda intención

Existen casos en los que la reparación de heridas es más complejo, esto es cuando la pérdida de células o de tejidos es más extensa, como en el infarto, la ulceración inflamatoria, formación de abscesos, o incluso en heridas grandes, quemaduras y en aquellas heridas en las que se produce infección. Al presentarse alguna de estas situaciones, la sola regeneración de las células parenquimatosas no puede reestablecer la estructura original del tejido (Kumar *et al.*, 1999). En respuesta a ello, hay un extenso crecimiento hacia adentro del tejido de granulación a partir del borde de la herida, seguido con el tiempo por una marcada acumulación de la matriz extracelular y de cicatriz.

La forma en la que se presenta este tipo de cicatrización, se le conoce como unión secundaria o cicatrización por segunda intención, y los procesos de reparación que sigue son los mismos que en los de primera intención, pero tardan mucho más tiempo debido al daño más extenso (Chandrasoma y Taylor, 1994; Kumar *et al.*, 1999).

Los aspectos en los que se diferencia la cicatrización por segunda intención de la cicatrización primaria son principalmente los siguientes:

- Los defectos extensos de tejido intrínseco tienen un mayor volumen de residuos necrosados, exudados y fibrina que deben ser eliminados y sustituidos por nuevas células.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- La cantidad de tejido de granulación formado es mayor, ya que en los defectos de mayor extensión éste tejido se acumula en un volumen más grande para llenar las brechas de la estructura estromal y suministrar así el armazón subyacente para el nuevo crecimiento del tejido epitelial. Generalmente, un mayor volumen de tejido de granulación produce una mayor masa de tejido cicatrizante.

- En este tipo de curación de heridas, se observa el fenómeno de contracción de herida. En seis semanas, por ejemplo, un gran defecto de la piel se puede reducir de 5 a 10% de su tamaño original, sobre todo por contracción. Se ha considerado que esto se debe a la presencia de miofibroblastos modificados que muestran muchas de las características ultraestructurales y funcionales de las células contráctiles del músculo liso (Kumar *et al.*, 1999).

En la Fig. 1, se presentan las fases presentes durante el proceso de cicatrización de heridas, así como las células y componentes involucrados en el proceso.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

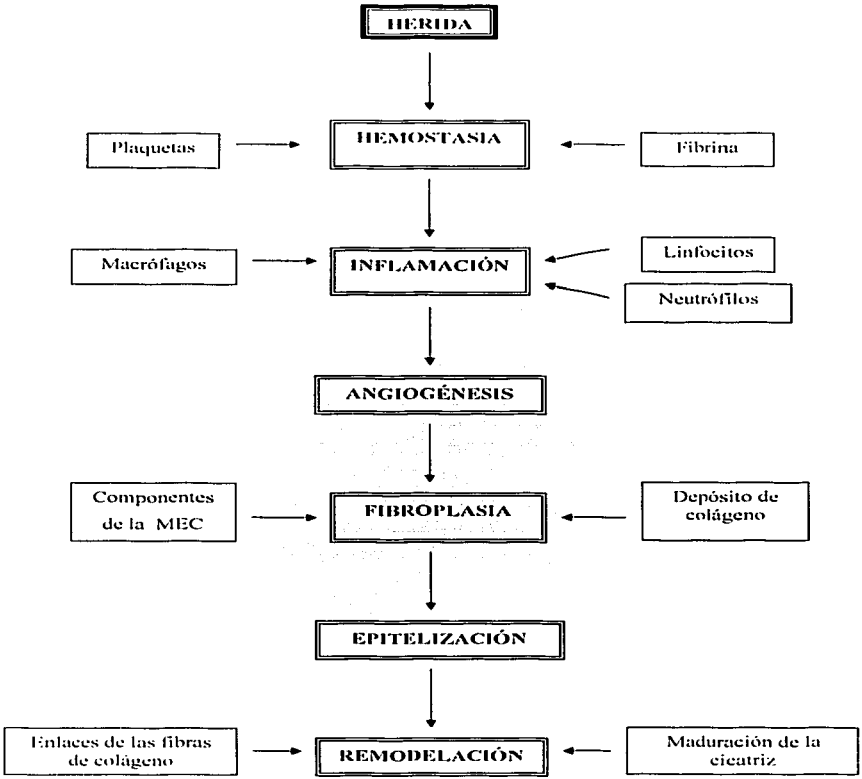


Fig. 1. Fases presentes durante el proceso de cicatrización de heridas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.5.5. Factores que afectan la cicatrización de heridas

Durante el proceso de cicatrización de heridas, existen algunos factores que influyen directamente sobre este proceso, de modo que lo pueden acelerar o retardar. Estos factores pueden ser locales y sistémicos del tejido lesionado.

2.5.5.1. Factores locales

- **Infección.** Si bien, las heridas sirven de puerta de entrada para microorganismos, la infección es la causa aislada más importante de retraso en la cicatrización, porque prolonga la fase inflamatoria del proceso y potencialmente aumenta la lesión local del tejido (Kumar *et al.*, 1999; Rubin y Farber, 1992).

- **Tipo, tamaño y localización de la herida.** La herida aséptica limpia producida después de una cirugía cura más rápido que la causada por un traumatismo contuso, que exhibe abundante necrosis y bordes irregulares. Las heridas pequeñas de este tipo curan más rápido que las grandes y las heridas en áreas muy vascularizadas lo hacen primero que las que ocurren en tejido poco vascularizado. La adhesión a superficies óseas, como a nivel de la tibia, impide la contracción y aposición adecuada de los bordes (Rubin y Farber, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- **Vascularización.** Las heridas que no tienen buena vascularización curan con lentitud, lo mismo sucede cuando existe un riego sanguíneo escaso, esto último es debido a arterioesclerosis o a obstrucción del drenaje venoso, lo cual también daña a la cicatrización. Además la isquemia por ejemplo, provocada por enfermedades arteriales y deterioro del drenaje venoso perturba el proceso de curación de heridas (Chandrasoma y Taylor, 1994; Kumar *et al.*, 1999).

- **Movimiento.** El movimiento prematuro somete a la herida a un traumatismo persistente. El ejercicio también aumenta la concentración de glucocorticoides circulantes, que inhiben la reparación (Rubin y Farber, 1992). Además, otros factores mecánicos como la presión local o torsión pueden causar separación de los bordes de la herida, o dehiscencia (Kumar *et al.*, 1999).

- **Radiación ionizante.** La irradiación deja lesiones vasculares que comprometen el aporte sanguíneo y retardan la curación de las heridas. La irradiación de la herida bloquea la proliferación celular, inhibe la contracción y retarda la formación de tejido de granulación (Chandrasoma y Taylor, 1994).

- **Presencia de material extraño.** La presencia de cuerpos extraño, tejido necrótico o sangre excesiva interfiere con la curación de la herida. Por ello, durante la cirugía debe eliminarse completamente el tejido extraño y necrótico, y asegurar la hemostasia antes de que cierre la incisión (Chandrasoma y Taylor, 1994).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.5.5.2. Factores sistémicos

- **Estado metabólico.** Tanto el estado metabólico como la nutrición, tienen efectos profundos sobre la cicatrización de heridas. La diabetes mellitus mal controlada impide la curación de las heridas. En los diabéticos a menudo éstas se infectan y, a su vez, la infección dificulta el control de la enfermedad, de modo que la curación se retarda mucho y a veces no se produce. La desnutrición dificulta la curación de heridas: la metionina es necesaria; el zinc funciona como cofactor de diversas enzimas promoviendo una curación más rápida de las heridas; la vitamina C es necesaria para la síntesis y secreción del colágeno, porque la carencia de esta vitamina (escorbuto) produce una curación muy deficiente; además los glucocorticoides tienen efectos antiinflamatorios bien comprobados y su administración a veces reduce la resistencia de la herida debido a la disminución de la fibrina (Rubin y Farber, 1992; Kumar *et al.*, 1999).

- **Hormonas.** La cortisona y otros esteroides comprometen la curación de las heridas y esto se atribuye a que inhiben la síntesis de colágeno. Sin embargo, estas hormonas surten muchos efectos, que influyen acciones antiinflamatorias y depresión general de la síntesis de proteínas. También los corticosterorides pueden afectar en forma adversa la curación de las heridas, interfiriendo con la función de neutrófilos y macrófagos (Chandrasoma y Taylor , 1994; Rubin y Farber, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.6. Tratamiento en la cicatrización de heridas

2.6.1. Fármacos

Existen muy pocos fármacos con actividad cicatrizante que aceleren la curación de heridas, sin embargo, la mayoría de ellos actúa como antibiótico o sobre la reepitelización del tejido conectivo, favoreciendo los procesos de reparación tisular y ejerciendo la formación, maduración y migración de fibroblastos, lo cual conduce a la rápida síntesis del tejido granular y del colágeno. En seguida se presenta una tabla con los fármacos empleados en medicamentos comerciales, con actividad cicatrizante y cuyo origen es sintético y de la fermentación de algunos microorganismos .

Tabla 2. Fármacos empleados en la curación de heridas (Vademécum, 2000).

NOMBRE	MEDICAMENTO COMERCIAL Y FORMA FARMACÉUTICA	MECANISMO DE ACCIÓN
Policresuleno	Albothyl. Crema, gel, óvulos y solución.	Bactericida, fungicida, hemostático, restaurador del pH normal de la piel, queratolítico y queratoplástico.
Oxido de zinc	Lassar, pasta. Capent, pomada.	Actúa como protector de la piel, evitando su irritación por el aire y como antiséptico, disminuyendo la posibilidad de infección.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Fármacos empleados en la curación de heridas (continuación).

NOMBRE	MEDICAMENTO COMERCIAL Y FORMA FARMACÉUTICA	MECANISMO DE ACCIÓN
Ácido acexámico	Recoveron. Ungüento, crema y urgüento con sulfato de neomicina.	Sus principales efectos son sobre la regulación del tejido conjuntivo, permitiendo una epitelización rápida y participa en la acción proteica del colágeno .
Ketanserina	Sufrexal. Gel y tabletas.	Interviene sobre los tres niveles de la cicatrización: inflamación, granulación y epitelización. Mejora la microcirculación en el área de la herida aumentando el aporte de oxígeno y de nutrientes en el tejido.
Clostebol	Trofodermin – S. Crema.	Activa la síntesis de colágeno, favoreciendo la formación del tejido de granulación, además acelera la síntesis de mucopolisacáridos.
Colagenasa (Clostridiopeptidasa A)	Ulcoderma. Ungüento formulado con cloramfenicol.	Digiere el colágeno desnaturalizado y la fibrina de los tejidos necróticos. Contribuye a la formación del tejido de granulación y subsecuentemente a la epitelización de las lesiones cutáneas.
Yodopovidona	Yodine U. Ungüento.	Posee propiedades como bactericida y fungicida. Protege las lesiones de la piel y favorece su curación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.6.2. Plantas medicinales utilizadas para curar heridas.

El uso tradicional de las plantas medicinal en la dermatología tiene gran relevancia debido a los efectos benéficos que éstas presentan sobre ciertas enfermedades de la piel como lo son la rápida cicatrización de heridas, por su actividad antifúngica, antiviral, antibacterial y contra infecciones como el acné, herpes y tiña; además de poseer actividad contra enfermedades del sistema inmunológico que afectan la piel como la psoriasis, enfermedades tumorales y cáncer (Mantle *et al.*, 2001).

Los extractos de las plantas medicinales pueden aumentar la cicatrización de las heridas por el incremento de la velocidad de síntesis del tejido conectivo, por la estimulación del crecimiento celular del endotelio y de los fibroblastos, por ciertos efectos sobre la microcirculación, o ejerciendo su acción por vía antibacterial para prevenir de esta forma infecciones en la piel y aumentar su efecto cicatrizante (Mantle *et al.*, 2001).

Aproximadamente una tercera parte de las medicinas tradicionales se emplean para el tratamiento de las heridas y enfermedades de la piel, en comparación con los fármacos modernos, de los cuales sólo del 1 al 3 % son usados para estos propósitos, por ello tienen gran importancia dentro del campo de la medicina (Mantle *et al.*, 2001).

Sin embargo, a pesar del amplio uso y relevancia que tienen las plantas medicinales en la curación de enfermedades de la piel, existe muy poca información científica que se refiera a estudios realizados para evaluar y determinar la eficacia de los extractos de estas plantas para su uso clínico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A continuación se presenta una serie de plantas medicinales de Iberoamerica y México, empleadas en la medicina tradicional como cicatrizantes.

Aloe vera

Conocida vulgarmente como Sábila, perteneciente a la familia Liliaceae, es un cactus tropical del cual se han reportado que tiene un potente efecto terapéutico sobre una gran variedad de enfermedades presentes en los tejidos. Esta planta se ha usado en la medicina tradicional por varias culturas, así como también se ha empleado para tratar enfermedades tales como la artritis, acné, dermatitis y para curar heridas tales como úlceras pépticas y quemaduras, además de que ha mostrado tener propiedades antidiabéticas e hipoglucemiantes (Grindlay y Reynolds, 1986).

El gel fresco, jugo o productos formulados con esta planta se usan en la medicina y cosmetología para la salud en general.

Estudios realizados en esta planta, revelan su actividad cicatrizante en heridas de rata bajo condiciones normales y en ratas diabéticas mediante la evaluación de algunos componentes de la matriz extracelular como colágeno, elastina, glucosaminoglucanos y ácido hialurónico, además de que los extractos del *Aloe vera* aumentan el proceso de cicatrización, así como también aceleran la velocidad de contracción de la herida y su periodo de epitelización (Chithra *et al.*, 1998).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Triticum vulgare

El trigo, es una gramínea que crece en el otoño-invierno, perteneciente a la familia Graminaceae. Mide hasta 1.5 m de altura, con tallo en forma de caña delgada y simple. Hojas envainadas, alternas, largas, lineales, enteras y liguladas. Flores reunidas en panículas de espigas sésiles. Fruto cariópside, seco, oval. Es originario de Asia Menor y del sureste de Asia, Península Balcánica y Abisinia. Su uso en la medicina tradicional es del salvado de trigo como febrífugo, para aliviar la colitis ulcerativa y la diverticulosis, las fiebres y el estreñimiento. El almidón y la harina integral secos, aplicados externamente, se usan para el tratamiento de erupciones cutáneas y en forma de engrudo para tratar inflamaciones, quemaduras, grietas de las manos y pechos. La decocción o lavados de harina integral se usa para sanar inflamaciones intestinales, diarrea o disentería. El almidón de trigo *(amylum tritici)* se utiliza como emoliente y calmante en las afecciones cutáneas.

La composición química del trigo está constituida principalmente por fibra (26.7%), almidón, celulosa, gluten, β-sitosterol, vitamina E y otras sustancias.

En la actualidad no existen estudios científicos donde se evalúe su actividad cicatrizante, pero a pesar de ello se usa como principio activo de algunos medicamentos comerciales para ejercer esta actividad. Entre estos medicamentos tenemos a la Fitoestimulina, cuya forma farmacéutica en óvulos es combinada con fenoxietanol, actuando éste como antibiótico; y el Italdermol en crema y óvulos vaginales, que al igual que la anterior es formulada con fenoxietanol (Vademécum, 2000).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Centella asiática

Se emplea en lesiones cutáneas para heridas, úlceras, edemas, eritema, estrías, quemaduras, cervicitis, vulvovaginitis, úlceras corneales, queratitis, así como, para las úlceras varicosas, e insuficiencia venosa.

El extracto de esta planta se emplea para acelerar la cicatrización de heridas porque contribuye a la reconstrucción de la matriz amorfa al estimular la síntesis de glucosaminglicanos de la matriz extracelular; duplica los fibroblastos aportando nuevas macromoléculas al tejido conjuntivo, estimula el tejido de granulación, incorpora al colágeno dos aminoácidos (alanina y prolina) para la biosíntesis del colágeno necesario en la reconstrucción del tejido conectivo después de una herida.

A través de estudios realizados en esta planta para demostrar su actividad cicatrizante, se ha determinado que los triterpenos presentes en ésta, son los responsables de ejercer este efecto terapéutico, además, contiene asiaticósidos (antioxidantes) que pròmueven la síntesis de colágeno y la angiogénesis en una herida cutánea (Maquart *et al.*, 1990; Suguna *et al.*, 1996).

Actualmente, existen productos comerciales y medicamentos elaborados con esta planta, los cuales se emplean como agentes cicatrizantes y para curar la celulitis. Entre los que se encuentra el Madecassol en comprimidos, crema, polvo y óvulos (Vademécum, 2000).

En el apéndice, se citan algunas plantas de origen mexicano e Iberoamericano, de las cuales no se reporta algún estudio relacionado con su efectividad como cicatrizante, pero que se usan como tales dentro de la medicina tradicional.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.6.3. Animales empleados en la curación de heridas

Debido a que las heridas en la piel se consideradan como patologías del tejido conectivo, que pueden complicarse y producir infecciones, no sólo se emplean fármacos de origen sintético o fermentativo, ni plantas medicinales para curar estas afecciones en la piel, sino que también existen animales que se usan con este fin.

En este caso se hace referencia a la Haruan, cuyo nombre científico corresponde a *Channa striatus*, y que se trata de una víbora que habita en agua fresca de algunos países tropicales (Saringat y Sheikh, 2000). Este animal pertenece a la familia Channidae, se usa particularmente en la recuperación de enfermedades serias como después de un parto o una cirugía de alto riesgo (Aldaba, 1931); para el tratamiento de enfermedades de la piel, específicamente en la curación de heridas como agente cicatrizante (Saringat y Sheikh, 2000).

Estudios acerca de esta víbora, establecen que contiene ácidos grasos poliinsaturados que regulan la síntesis de prostaglandinas y por lo tanto inducen a la rápida cicatrización de heridas (Bowman, 1990; Gibson, 1983). Estudios recientes confirman esta actividad en la que se emplea una crema con extractos de este animal, y en los cuales se asegura que sus componentes aumentan la síntesis de colágeno (Saringat y Sheikh, 2000).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.7. Antecedentes del Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*)

2.7.1. Descripción

El Cuachalalate Schiede ex Schlecht, perteneciente a la familia Julianiaceae, a la división Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, subclase Rosidae y al orden de las Sapindales, posee el nombre científico *Amphipterygium adstringens* y se llama también cuachalala, chalalate, chalalote, quetchalalatl, volador y cuachalalá (Martínez, 1979). Es de origen americano y crece desde México hasta Perú. Su nombre proviene del náhuatl kojchalalajtli, koj-kuautli–árbol; chalalajtli-chala-chichalaca-guajolote silvestre (González *et al.*, 2000).
Se encuentra distribuido en varios estados de la República Mexicana, entre los que se encuentran Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Morelos y Puebla (Díaz, 1974; Estrada, 1985; Rzedowsky, 1978; Martínez, 1979).

2.7.2. Composición química

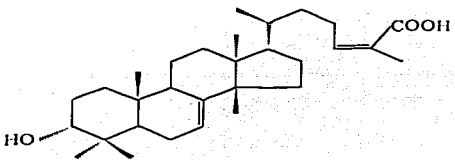
Las investigaciones del Cuachalalate en el ámbito fitoquímico se han realizado principalmente en la corteza del árbol, ya que es la parte de la planta que se emplea para ejercer su efecto terapéutico. De dicha corteza, se han identificado a la sarsasapogenina (González y Delgado, 1962), y se han aislado e identificado varios ácidos triterpénicos como el ácido masticadienónico, el 3α-hidroximasticadienónico (Navarrete, 1982; Soriano *et al.*, 1987; el isomasticadienónico, 3-epihidroximasticadienónico, oleanólico, epioleanólico (Navarrete *et al.*, 1989); el ácido instipolinácico (Domínguez, 1983); el ácido cuachalálico

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(Watson, 1987); el esterol, β-sitosterol (Navarrete *et al.*, 1989); el triterpeno 27-acetoxi-3α, 15α-dihidroxidammara-12, 24-dieno (Pérez *et al.*, 1993); ácidos alquilfenólicos y aldehídos alquilfenólicos (Navarrete *et al.*, 1989; Mata *et al.*, 1991).

Metabolitos activos del cuachalalate

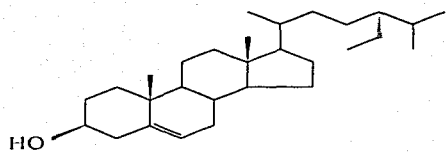
De algunos de los compuestos triterpénicos aislados de la corteza del Cuachalalate, se ha demostrado que el ácido 3α-hidroximasticadienónico (Fig. 2), β-sitosterol (Fig. 3) y el ácido 3-*epi*-oleanólico poseen el efecto gastroprotector (Navarrete *et al.*, 1998).



(Navarrete *et al.*, 1982)

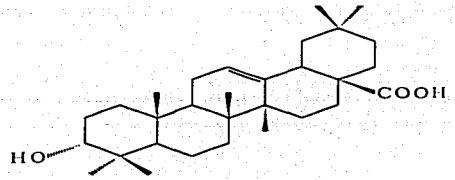
Fig. 2. Ácido 3α-hidroximasticadienónico

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



(Navarrete *et al.*, 1989)

Fig. 3. β-sitosterol



(Navarrete *et al.*, 1989)

Fig. 4. Ácido 3-*epi*-oleanólico

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.7.3. Actividad Farmacológica

El Cuachalalate es usado comúnmente en la República Mexicana; su corteza se expende en la mayoría de los mercados debido a que se le atribuyen las propiedades curativas de cicatrizante, para curar el cáncer de estómago, la colelitiasis, la úlcera, gastritis, es un astringente y antiséptico natural para lavar heridas y curar el acné, como antiinflamatorio e hipocolesterolemiante (Mata *et al.*, 1991).

Mediante estudios experimentales, se ha comprobado la actividad antiulcerosa de los extractos acuosos de la corteza, la cual no se relaciona con el efecto antagonista de los receptores H_2 de la histamina (Navarrete *et al.*, 1990). También se ha demostrado que varias fracciones del extracto metanólico de la corteza de esta planta tienen un efecto gastroprotector, el cual se postula como el mecanismo de acción de esta planta (Navarrete *et al.*, 1998).

Además se han estudiado sus propiedades para actuar como filtro solar. El extracto de Cuachalalate tiene la capacidad de absorber las radiaciones ultravioleta (Quintanar *et al.*, 1994).

Dentro de las publicaciones importantes acerca de los usos del Cuachalalate, cabe mencionar que existen algunas patentes registradas en Japón, en las cuales se reporta la invención de productos preparados con esta planta. Una de estas patentes se refiere a un tónico para el cabello, cuyo efecto principal es para detener y evitar la caída del cabello

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(Tsuru *et al.*, 1993). En otra patente del Cuachalalate, se reporta la invención de una composición herbal, en la que se emplea el Cuachalalate en combinación con otra planta del género Equisetum, preparados en bolsas para té, útil para el tratamiento de las hemorroides (Garza, 1999). También se reportan otras patentes de lociones y cremas en las que se hace uso del Cuachalalate (Shisheido, 1999), sin embargo, ninguna de éstas se han registrado en México.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de la medicina tradicional mexicana, el Cuachalalate *(Amphipterygium adstringens)* se ha usado desde la antigüedad para curar la cicatrización de heridas, cáncer de estómago, acné y la úlcera gástrica principalmente. Sin embargo, no existe algún informe científico en el que se haya estudiado la efectividad de esta planta medicinal como agente cicatrizante.

En general, la literatura científica reporta muy poca información relacionada a estudios para la determinación de la seguridad y eficacia de extractos de plantas sobre la cicatrización de heridas, importante en el control clínico de las patologías relacionadas al tejido conjuntivo.

Debido a lo anterior, se consideró importante llevar a cabo los estudios correspondientes para evaluar la actividad cicatrizante del *Amphipterygium adstringens* sobre heridas de rata Wistar a diferentes dosis, y así tener un respaldo científico en el que se pueda documentar la eficacia de la planta y considerarlo para su uso posterior dentro de la medicina.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IV. HIPÓTESIS

El Cuachalalate como agente cicatrizante es eficaz en el tratamiento de heridas cutáneas, aumentando la velocidad de síntesis del tejido conectivo por medio de la síntesis de colágeno en el proceso de cicatrización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

- Valorar el efecto cicatrizante del extracto metanólico de Cuachalalate sobre heridas cutáneas de rata Wistar, a través de la velocidad de cicatrización, la cantidad de colágeno y las fases de la cicatrización.

5.2. Objetivos particulares

- Preparar extracto metanólico de la corteza de *Amphipterygium adstringens*.
- Determinar la eficacia del extracto metanólico del Cuachalalate en heridas de rata Wistar.
- Determinar la dosis efectiva media del extracto metanólico de Cuachalalate sobre heridas cutáneas de rata Wistar.
- Estimar el tiempo en que se regenera el tejido después de una herida en la piel al aplicar el extracto metanólico de Cuachalalate.
- Comprobar la actividad cicatrizante del extracto metanólico de Cuachalalate a través de la cuantificación de colágeno y de pruebas histológicas.
- Evaluar el efecto cicatrizante del extracto metanólico de Cuachalalate sobre las fases de la cicatrización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI. MATERIAL Y MÉTODO

Metodología usada para alcanzar los objetivos planteados.

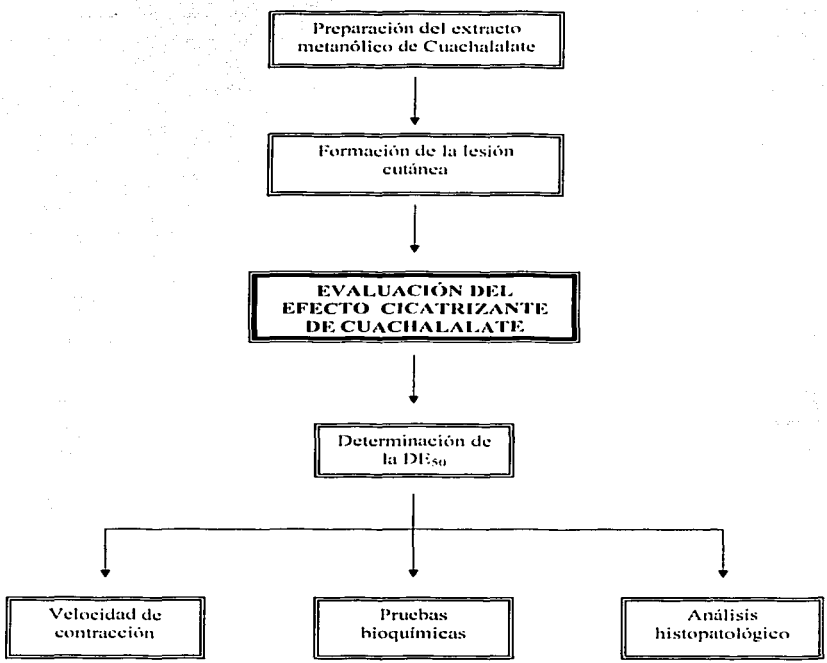


Fig. 5. Diagrama de flujo de la metodología general.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.1. Material biológico

Para el desarrollo de este proyecto se emplearon ratas Wistar de entre 225 y 249 g de peso, adquiridas del Centro Harlan México de la Universidad Nacional Autónoma de México. Estos animales se mantuvieron *ad libitum*.

6.2. Material vegetal

Se usó 1 Kg de corteza molida de Cuachalalate, adquirida en el mercado de Sonora. Una muestra de referencia se depositó en el Herbolario del Centro Médico Nacional Siglo XXI, y fue identificada por la M. en C. Abigail Aguilar, además se comprobó su autenticidad mediante la prueba de identificación para esta planta, siguiendo el método descrito en la Farmacopea Herbolaria Nacional de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM, 2001).

6.3. Preparación del extracto metanólico

El extracto de la corteza molida de Cuachalalate se preparó por ebullición con metanol a reflujo durante una hora, repitiéndose la extracción 3 veces.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.4. Formación de la lesión cutánea

Cada animal fue pesado y anestesiado con pentobarbital sódico a una dosis de 46 mg/Kg de peso, administrada por vía intraperitoneal. El lado derecho del dorso de cada rata se rasuró bajo condiciones asépticas con alcohol al 70%. Por cada rata y con un busturí se hizo una herida cuadrada de 1.5 X 1.5 cm en la piel de la parte dorsal prerrasurada, de manera que quedaron profundas y en excisión en todo el grueso de la piel de los animales (Saringat y Sheik, 2000; Chithra *et al.*, 1998). Cada animal se colocó en cajas individuales con piso de malla y se mantuvieron bajo condiciones estándares de laboratorio *ad libitum*.

6.5. Tratamiento de las heridas

Para evaluar la eficacia del extracto metanólico del Cuachalalate sobre heridas de rata, después de hacer las heridas cutáneas a cada rata, éstas fueron divididas en 5 grupos de 6 animales cada uno y se trató tópicamente con 0.1 mL de una solución acuosa del extracto metanólico de Cuachalalate a diferentes dosis como se muestra en la tabla 3. Las concentraciones se ajustaron para administrar en 0.1 mL la dosis indicada para cada grupo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 3. Distribución de los tratamientos en las diferentes dosis del extracto metanólico de Cuachalalate.

Grupo	n	Dosis (mg/herida)
1	6	Control*
2	6	3
3	6	10
4	6	30
5	6	100

* Grupo control, tratado únicamente con solución salina al 0.9 %.

La finalidad de dividir las ratas en los grupos anteriores, fue para determinar la DE_{50}.

Dentro de un estudio preliminar para evaluar el mismo efecto cicatrizante y bajo las mismas condiciones, se empleó una decocción, un extracto comercial y un extracto metanólico de la corteza de Cuachalalate, además de un gel preparado con el extracto comercial de la misma planta, todos a una concentración del 2% en grupos de 6 animales cada uno. También se usó un grupo control tratado con solución salina y otro grupo tratado con una crema comercial de policresuleno.

Este estudio preliminar se realizó con el objetivo de establecer con cual de éstos tratamientos aumentaba la velocidad de cicatrización de la herida cutánea.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.6. Evaluación del efecto cicatrizante del Cuachalalate sobre las heridas cutáneas

Para evaluar el efecto cicatrizante del Cuachalalate sobre las heridas cutáneas, con la ayuda de un Vernier se midió la longitud de la herida de cada rata en cm, cada mañana antes de aplicar el siguiente tratamiento. Con esto se evaluó la velocidad de contracción de la herida y con ello se determinó la DE_{50}, además de estimar el periodo de epitelización.

El periodo de epitelización se consideró como el tiempo en el que desapareció la cicatriz y se regeneró el tejido conectivo.

Además, se cuantifico la cantidad de colágeno a los 3, 6, 9, 12 y 15 días después de provocar la herida y se tomaron fotografías de los cortes histológicos para evaluar si existía o no diferencia entre las heridas de ratas tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate a una dosis de 30 mg. Esta dosis se consideró como referencia de un estudio en la que se evaluó el efecto cicatrizante del *Aloe vera* a la misma dosis (Chithra, *et al.*,1998).

6.6.1. Determinación de colágeno

Esta prueba bioquímica consiste en cuantificar colágeno mediante la estimación de hidroxiprolina en los tejidos, ya que está proteína es la más abundante en el tejido conectivo. En ésta, se lleva a cabo una reacción entre la hidroxiprolina (aminoácido presente en mayor cantidad en el colágeno) y el p - dimetilaminobenzaldehído

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(conocido también como reactivo de Erhlich), en la que se forma un compuesto colorido que absorbe a 563 nm, por lo que se puede cuantificar (Robyt y White, 1987). Para llevar a cabo el análisis bioquímico, se sacrificaron grupos de 6 ratas tratadas tópicamente con 0.1 mL de una solución acuosa de 30 mg del extracto junto con otro grupo tratado únicamente con solución salina. El sacrificio de los animales se realizó a los 3, 6, 9, 12 y 15 días después de efectuar la herida. Los tejidos lesionados se extrajeron de cada rata y se mantuvieron en nitrógeno líquido bajo -70°C para su conservación. Posteriormente cada tejido se analizó de la siguiente manera, individualmente cada muestra de tejido se pesó y se colocó en un tubo de ensayo de 18 X 100 con tapón de baquelita, se adicionaron 5 mL de HCl 6 N y perlas de vidrio como cuerpos de ebullición, los tubos se taparon y se colocaron en un baño de aceite a 130°C durante 3 horas para llevar a cabo la hidrólisis del colágeno y la liberación de la hidroxiprolina. Después de la hidrólisis, los tubos se sacaron del baño de aceite y se dejaron enfriar a temperatura ambiente, el contenido de cada tubo se neutralizó con NaOH 2.5 N llevándose a un pH de 6, el contenido del tubo se vertió en un matraz volumétrico de 50 mL y se aforó con agua destilada. De esta solución, se tomó una alícuota de 1 mL con una pipeta volumétrica, se adicionó a un matraz volumétrico de 25 mL y también se aforó con agua destilada. De la última solución se tomó una alícuota de 2 mL y se colocaron en un tubo de ensayo para proseguir con su análisis. A partir de este paso se siguió el mismo procedimiento para una curva del estándar de L-hidroxiprolina a una concentración de 12 a 16 µg/mL, haciendo lo mismo para el blanco.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A los 2 mL de muestra, se adicionaron 1 mL de T-cloramina para permitir oxidar a la hidroxiprolina, se mezeló y se dejó reposar por 20 minutos. Para eliminar la T-cloramina excedente, se adicionó 1 mL de ácido perclórico, se mezeló y se permitió reposar por 5 minutos. Finalmente, se adicionó 1 mL de p-dimetilaminobenzaldehido y se agitó, cada tubo se colocó en un baño de agua por 20 minutos, se dejó enfriar los tubos a temperatura ambiente por 5 minutos y después de 8 minutos se leyó la absorbancia del complejo color rosa a una λ de 563 nm (Woessner, 1961; Shukla *et al.*, 1999; Chithra *et al.*, 1998).

Por interpolación con la curva de hidroxiprolina se obtuvo el contenido de este aminoácido en mg por 100 mg de tejido húmedo de cada muestra de tejido.

6.6.2. Pruebas histológicas

Se realizaron cortes histológicos de los tejidos de los animales sacrificados a los mismos días y bajo las mismas condiciones de tratamiento que para el análisis bioquímico. Cada tejido se colocó en formol al 10% para su fijación, posteriormente se pasaron por una mezcla de alcohol al 90%, formol, alcohol absoluto, alcohol al 90, 70 y 30%, xileno y finalmente por una mezcla de cera de xileno y de cera de parafina para su deshidratación. Después de obtener los tejidos deshidratados se hicieron cuadros delgados de tejido de 5 µm y se colocaron con hematoxilina y eosina, cada tejido se observó en el microscopio a diferentes aumentos, se identificó y se analizó el edema, la

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

inflamación, células y a cada uno de los principales componentes de la matriz extracelular presentes en las fases del proceso de cicatrización (Shukla *et al.*, 1999).

6.6. Análisis estadístico

Todos los datos fueron analizados estadísticamente por un análisis de varianza de un factor, seguida de una comparación de medias usando una prueba t de Dunnett. Considerando diferencias significativas para una $p < 0.05$.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V. RESULTADOS

A continuación se describen los resultados obtenidos en la evaluación del efecto cicatrizante del extracto metanólico de Cuachalalate sobre lesiones cutáneas de rata Wistar.

En el estudio preliminar en el que se empleó una decocción de la corteza de Cuachalalate, un extracto comercial, un extracto metanólico de Cuachalalate y un gel preparado con el extracto comercial de la misma planta, todos a una concentración del 2%; una crema comercial de policresuleno y un grupo control tratado con solución salina (en grupos de 6 animales cada uno), se muestran en la Figura 6. En esta Figura se expresa la velocidad de contracción de la herida, y se observa que la contracción de la herida aumentó con el tiempo, sin embargo no se presentó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados y el grupo control.

Es importante señalar que se empleó el extracto metanólico de la corteza de Cuachalalate debido a que en éste se han podido identificar algunos compuestos triterpénicos y que en estudios relacionados con la actividad cicatrizante de la *Centella asiatica* (Maquart *et al.*, 1990; Suguna *et al.*, 1996), se ha demostrado que los triterpenos que posee esta planta son los encargados de aumentar la velocidad de cicatrización de heridas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

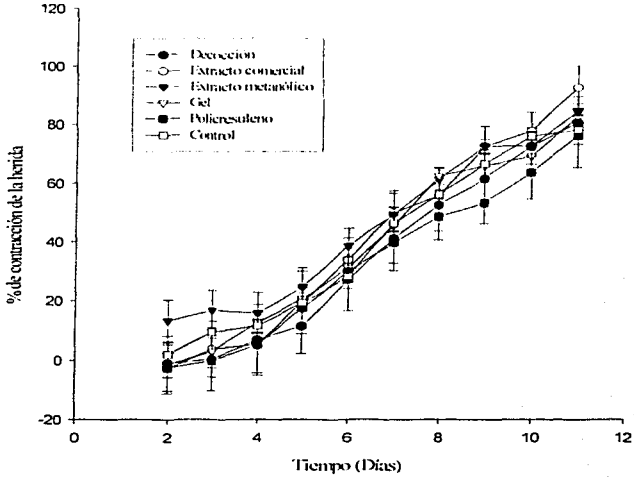


Fig. 6. Velocidad de cicatrización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas con una decocción, extracto comercial, extracto metanólico y gel de Cuachalalate al 2%; un grupo con crema comercial de policresuleno y un grupo control tratado con solución salina al 0.9%. Los datos representan la media ± el error estándar (EEM) para 6 animales de cada grupo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Determinación de la DE_{50}

En la Figura 7, se muestra la velocidad de contracción de la herida expresada en términos del porcentaje de la herida cicatrizada a diferentes días y tomando como referencia el primer día después de provocar la lesión. Para estimar el porcentaje de contracción de la herida, se empleó la ecuación 1. En está figura se observa un incremento en la contracción de la herida conforme avanzan los días del tratamiento, así se puede apreciar claramente que a los 11 días la herida se ha contraído de un 70 a un 80% en todos los grupos. Sin embargo, no se presentó alguna diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados tópicamente con el extracto metanólico de Cuachalalate a las dosis de 3, 10, 30 y 100 mg, y el grupo control tratado únicamente con solución salina. Debido a que no se presentó un efecto dependiente de la dosis dado por la velocidad de contracción, no fue posible estimar la DE_{50}

$$\% \text{ contracción de herida} = \frac{\text{Diámetro inicial}_{cm} - \text{Diámetro final}_{cm}}{\text{Diámetro inicial}_{cm}} \times 100$$

Ec. 1. Determinación de la velocidad de contracción de la herida cutánea de rata Wistar.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

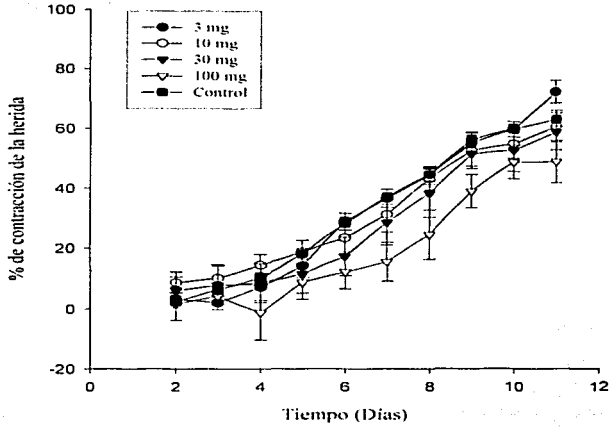


Fig. 7. Velocidad de cicatrización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate a diferentes dosis. Los datos representan la media ± EEM para 6 animales de cada grupo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La Tabla 4 presenta el periodo de epitelización de las heridas tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate a una dosis de 30 mg y del grupo control. En ambos grupos se consideró como el periodo de epitelización al tiempo en el que la herida cerró de un 80% a un 90%, lo cual fue estimado con el porcentaje de contracción de la herida, de este modo se puede apreciar que este periodo fue a los 15 días sin presentar diferencia significativa entre ambos grupos.

Tabla 4. Periodo de epitelización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate.

GRUPOS	DÍAS
Tratamiento	15 ± 3
Control	15 ± 3.5

Dado que no fue posible establecer la DE_{50} del extracto metanólico del Cuachalalate para su efecto cicatrizante por medio de la velocidad de contracción de la herida, se consideró la dosis de 30 mg del extracto para evaluar el mismo efecto pero a través de la cuantificación de colágeno y mediante pruebas histológicas a diferentes días después de hacer la herida cutánea. Esta dosis se tomó como referencia de la literatura (Chithra, *et al.*,1998) en la que se evaluó el mismo efecto cicatrizante del *Aloe vera*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La Figura 8 muestra la velocidad de contracción de la herida pero del grupo tratado tópicamente con el extracto metanólico de Cuachalalate a una dosis de 30 mg y con el grupo control. Se observa claramente al igual que en la Figura 7, que la contracción de la herida aumenta respecto al tiempo y que a los 15 días después del tratamiento la herida cerró en un 90%, sin embargo, no se aprecia una diferencia significativa entre ambos grupos.

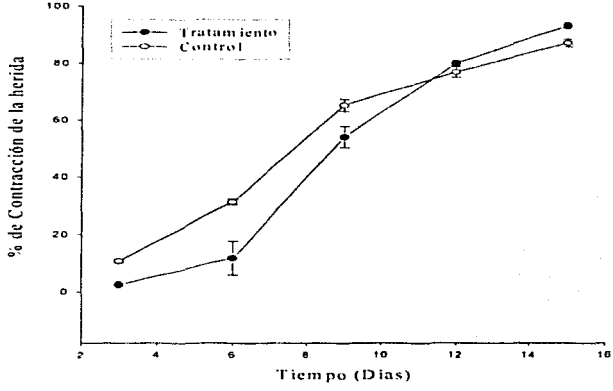


Fig. 8. Velocidad de cicatrización de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate a una dosis de 30 mg. Los datos representan la media ± EEM para 6 animales de cada grupo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuantificación de colágeno

En la Figura 9 se muestra el contenido de colágeno a diferentes días, expresado en mg de hidroxiprolina por 100 mg de tejido húmedo. En esta figura se aprecia un incremento en la cantidad de hidroxiprolina en los primeros días de tratamiento, presentándose un máximo a los 9 días para el grupo control y a los 12 días para el grupo tratado con el Cuachalalate. Sin embargo, después de estos días el contenido de la proteína de colágeno comenzó a decrecer pero a una velocidad menor en ambos grupos, los cuales no mostraron una diferencia significativa.

Para poder estimar la cantidad de colágeno a diferentes tiempos, se construyó una curva estándar de hidroxiprolina empleando un intervalo de concentración de 2 a 16 µg/mL, mostrado en la Figura 10.

En la Tabla 5 se presentan los valores obtenidos en la curva estándar de hidroxiprolina repetida tres veces, en ésta se expresan las diferentes concentraciones usadas en µg/mL con el promedio de sus respectivas absorbancias que se obtuvieron al cuantificar el cromóforo de hidroxiprolina a 563 nm. Además, en la Tabla 6 se muestran los parámetros referentes a la regresión lineal de curva estándar de hidroxiprolina y en la Tabla 7, se muestra el análisis de varianza de la regresión lineal de la misma curva con una $p < 0.001$.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

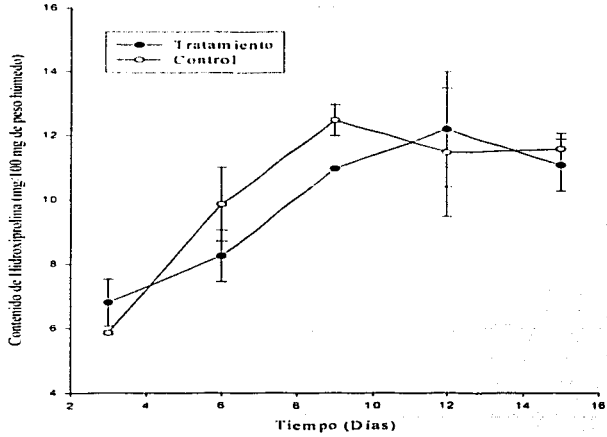


Fig. 9. Contenido de hidroxiprolina en tejidos de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

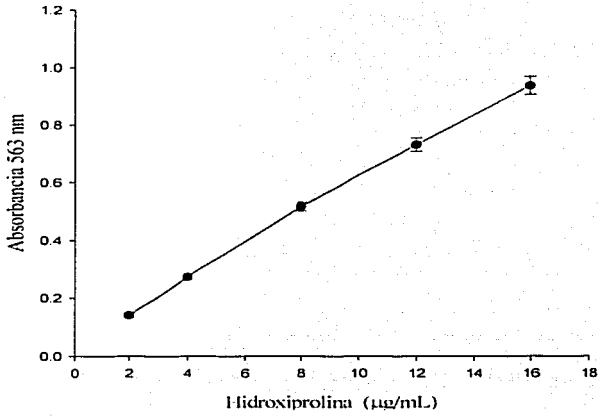


Fig. 10. Curva estándar de Hidroxiprolina. Los datos representan la media ± el EEM para tres repeticiones de la curva.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 5. Valores de la curva estándar de hidroxiprolina. los datos presentan la media ± EEM para tres repeticiones de la curva.

Concentración (µg/mL)	Absorbancia 563 nm
2	0.140 ± 0.00731057
4	0.273 ± 0.00983757
8	0.516 ± 0.01451819
12	0.731 ± 0.02351595
16	0.937 ± 0.0314978

Tabla 6. Parámetros de la regresión lineal de la curva estándar de hidroxiprolina. Los valores de m y b representan la media ± EEM para tres repeticiones de la curva.

r	0.994
r^2	0.989
m	0.0568 ± 0.00166
b	0.0429 ± 0.0163

Tabla 7. Análisis de Varianza de la regresión lineal de la curva estándar de hidroxiprolina.

	Grados de Libertad	SC	MC	F	P
Regresión	1	1.268	1.268	1167.643	<0.001
Residual	13	0.0141	0.00109		
Total	14	1.283	0.0916		

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Pruebas histológicas

De la Figura 11 a la Figura 20 se muestran los cortes histológicos de las heridas cutáneas de rata Wistar tratadas tópicamente con el extracto metanólico de Cuachalalate y con el grupo control tratado con solución salina al 0.9%, teñidos con hematoxilina y eosina a 40 X, en los que se evalúan las fases de la cicatrización.

En la Figura 11 se presenta el corte del tejido de la herida cutánea después de tres días de tratamiento con el extracto de Cuachalalate a una dosis de 30 mg, y en la Figura 12 se encuentra el corte histológico del grupo control al mismo tiempo de tratamiento. En ambas figuras se aprecia la hemostasia caracterizada por la presencia de fibrina, inflamación del tejido, una presencia marcada de fibroblastos y proteoglucanos aunque no se presentó una diferencia entre ambos grupos.

En las Figuras 13 y 14 que corresponden al tratamiento y al control respectivamente, a los 6 días después de provocar la lesión se observa una disminución de fibrina y de la inflamación con referencia al tercer día de tratamiento, la cantidad de los componentes de la matriz extracelular como el colágeno y proteoglucanos aumentó, así como la formación de nuevos vasos capilares. Sin mostrar entre los dos grupos una diferencia marcada.

Las Figuras 15 y 16 presentan los cortes de las heridas del tratamiento y del control respectivamente a los 9 días de tratamiento. En ambas figuras se muestra que las heridas están ligeramente inflamadas, la síntesis de colágeno (fibras color rosa) debida a la presencia de fibroblastos (con núcleos de color morado) y los proteoglucanos (matriz que rodea a los fibroblastos y al colágeno) también se aprecian. Además, la cantidad de nuevos vasos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

capitales está también marcada severamente por los espacios en blanco en forma de circunferencias y elipses rellenos de eritrocitos presentes en las figuras sin mostrar diferencias entre ambas.

En la Figura 17 referente al tratamiento con el extracto de Cuachalalate a los 12 días de tratamiento, se observa un aumento en la cantidad de colágeno, fibroblastos, proteoglucanos y vasos capilares, lo mismos se muestra en la Figura 18 que pertenece al corte histológico del grupo control. Además, se observa un inicio en la epitelización del tejido en las dos figuras.

La Figura 19 muestra el tejido de la herida después de 15 días de haber provocado la lesión del grupo del tratamiento y la Figura 20 muestra las mismas condiciones pero del grupo control. En la primera figura se observa una mayor cantidad de colágeno maduro, una epitelización y remodelación de la cicatriz mayor que en la figura del control, ya que en la figura del tratamiento se aprecia una epitelización homogénea y en toda la parte de la herida a diferencia del grupo control que sólo una parte de la herida se comienza a remodelar.

Todas las fases del proceso de la cicatrización de las heridas se resumen en las Tablas de la 8 a la 12, en las que se establecen los efectos del tiempo y del tratamiento sobre cada fase, las cuales están marcadas con un signo (-) para aquellas que no presentan efecto; con una (+) para las que presentan un efecto ligero; con (++) para las que muestran un efecto moderado; y con (+++) para todas aquellas en las que se aprecia un efecto severo. De este modo se realizó el análisis histopatológico de las fases de cicatrización en los tejidos de los grupos a diferentes días.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

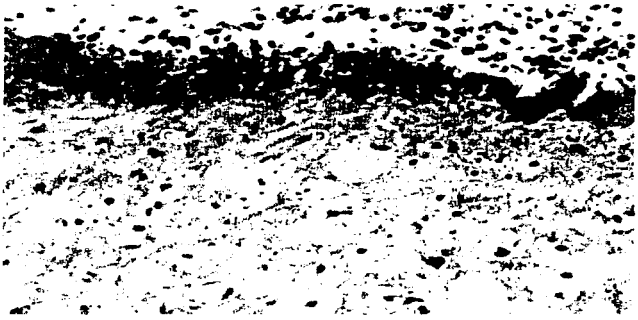


Fig. 11. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 3 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. Hematoxilina y eosina (40 X). Fibrina (A); células fagocitarias (B); proteoglucanos (C); fibroblastos (D); colágeno (E).

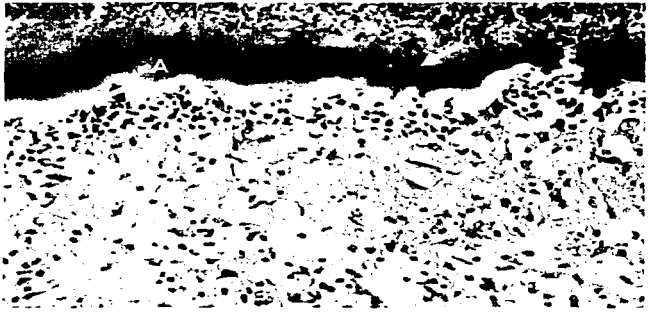


Fig. 12. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 3 días de tratamiento con solución salina. Hematoxilina y eosina (40 X). Fibrina (A); células fagocitarias (B) proteoglucanos (C); fibroblastos (D); capilares (E).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig. 13. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 6 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. Hematoxilina y eosina (40 X). Fibrina (A); células fagocitarias (B); proteoglucanos (C); fibroblastos (D); colágeno (E); capilares (F).

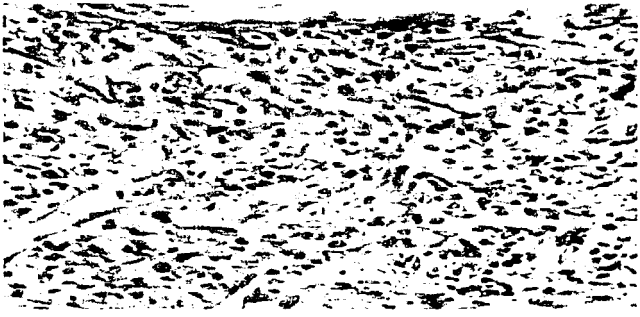


Fig. 14. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 6 días de tratamiento con solución salina. Hematoxilina y eosina (40 X). Células fagocitarias (A); proteoglucanos (B); fibroblastos (C); colágeno (D); capilares (E).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig. 15. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 9 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. Hematoxilina y eosina (40 X). Células fagocitarias (A); proteoglucanos (B); fibroblastos (C); colágeno (D); capilares (E); epitelización (F).

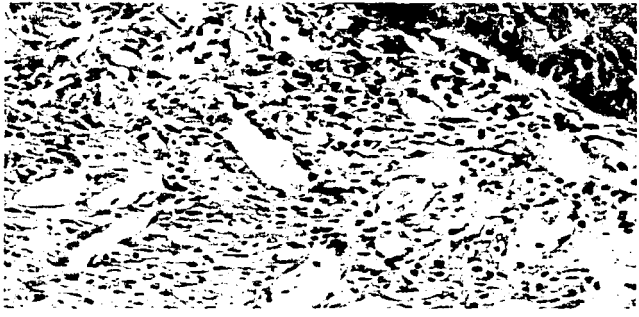


Fig. 16. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 9 días de tratamiento con solución salina. Hematoxilina y eosina (40 X). Células fagocitarias (A); proteoglucanos (B); fibroblastos (C); colágeno (D); capilares (E); epitelización (F).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig. 17. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 12 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. Hematoxilina y eosina (40 X). Células fagocitarías (A); proteoglucanos (B); fibroblastos (C), colágeno (D); capilares (E); epitelización (F).

Fig. 18. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 12 días de tratamiento con solución salina. Hematoxilina y eosina (40 X). Células fagocitarías (A); proteoglucanos (B); fibroblastos (C); colágeno (D); capilares (E); epitelización (F).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

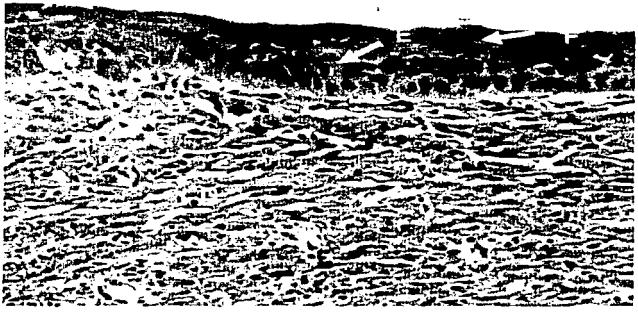


Fig. 19. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 15 días de tratamiento con extracto metanólico de Cuachalalate. Hematoxilina y eosina (40 X). Proteoglucanos (A); fibroblastos (B); colágeno (C); capilares (D); epitelización (E); remodelación de la cicatriz (F).

Fig. 20. Tejido de herida cutánea de rata Wistar después de 15 días de tratamiento con solución salina. Hematoxilina y eosina (40 X). Proteoglucanos (A); fibroblastos (B); colágeno (C); capilares (D); epitelización (E); remodelación de la cicatriz (F).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 8. Fases de la cicatrización del estudio histopatológico de tejido de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate (30 mg), después de 3 días de tratamiento.

FASES DE LA CICATRIZACIÓN	GRUPOS	
	Control	Tratamiento
Hemostasia		
Plaquetas	-	-
Fibrina	++	++
Inflamación	++	++
Neutrófilos	+	+
Macrófagos	+	++
Linfocitos	++	+
Angiogénesis	+	-
Fibroplasia		
Proteoglucanos	++	++
Fibroblastos	++	+
Depósito de colágeno	-	+
Epitelización	-	-
Remodelación	-	-

- sin efecto, + ligero; ++ moderado; +++ severo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 9. Fases de la cicatrización del estudio histopatológico de tejido de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate (30 mg), después de 6 días de tratamiento.

FASES DE LA CICATRIZACIÓN	GRUPOS	
	Control	Tratamiento
Hemostasia		
Plaquetas	-	-
Fibrina	-	+
Inflamación	+	+
Neutrófilos	+	+
Macrófagos	+	++
Linfocitos	+	+
Angiogénesis	++	++
Fibroplasia		
Proteoglucanos	++	++
Fibroblastos	++	++
Depósito de colágeno	++	++
Epitelización	-	-
Remodelación	-	-

- sin efecto; + ligero; ++ moderado; +++ severo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 10. Fases de la cicatrización del estudio histopatológico de tejido de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate (30 mg), después de 9 días de tratamiento.

FASES DE LA CICATRIZACIÓN	GRUPOS	
	Control	Tratamiento
Hemostasia		
Plaquetas	-	-
Fibrina	-	-
Inflamación	+	+
Neutrófilos	-	-
Macrófagos	+	+
Linfocitos	+	+
Angiogénesis	+++	+++
Fibroplasia		
Proteoglucanos	++	++
Fibroblastos	++	++
Depósito de colágeno	++	++
Epitelización	+	+
Remodelación	-	-

- sin efecto, + ligero, ++ moderado, +++ severo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 11. Fases de la cicatrización del estudio histopatológico de tejido de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate (30 mg), después de 12 días de tratamiento.

FASES DE LA CICATRIZACIÓN	GRUPOS	
	Control	Tratamiento
Hemostasia		
Plaquetas	-	-
Fibrina	-	-
Inflamación	+	+
Neutrófilos	-	-
Macrófagos	+	+
Linfocitos	+	+
Angiogénesis	++	++
Fibroplasia		
Proteoglucanos	++	++
Fibroblastos	++	+++
Depósito de colágeno	+++	+++
Epitelización	+	+
Remodelación	-	-

- sin efecto; + ligero; ++ moderado; +++ severo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12. Fases de la cicatrización del estudio histopatológico de tejido de heridas cutáneas de rata Wistar tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate (30 mg), después de 15 días de tratamiento.

FASES DE LA CICATRIZACIÓN	GRUPOS	
	Control	Tratamiento
Hemostasia		
Plaquetas	-	-
Fibrina	-	-
Inflamación	-	-
Neutrófilos	-	-
Macrófagos	+	+
Linfocitos	-	-
Angiogénesis	++	+
Fibroplasia		
Proteoglucanos	++	++
Fibroblastos	++	+
Depósito de colágeno	+++	+++
Epitelización	++	+++
Remodelación	-	+

- sin efecto, + ligero, ++ moderado, +++ severo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio para la evaluación del efecto cicatrizante del extracto metanólico de Cuachalalate sobre lesiones cutáneas de rata Wistar, se estableció que entre los grupos tratados y no tratados con el extracto no se presentó alguna diferencia estadísticamente significativa.

Según la Figura 7, se muestra la velocidad de contracción de la herida expresada en términos del porcentaje de la herida cicatrizada a diferentes días y tomando como referencia el primer día después de provocar la lesión. En esta figura, se presentan los cinco grupos tratados tópicamente del extracto metanólico de Cuachalalate a las dosis de 3, 10, 30 y 100 mg por herida, y teniendo como control negativo un grupo tratado únicamente con solución salina al 0.9%. Se observa claramente que no se presentó diferencia significativa entre los grupos tratados y el control, a pesar de que en el extracto metanólico del Cuachalalate se han identificado compuestos triterpénicos que de acuerdo con estudios realizados en la *Centella asiática* (Maquart *et al.*, 1990; Suguna *et al.*, 1996) bajo las mismas condiciones experimentales al evaluar el mismo efecto, han demostrado ser los encargados de aumentar la velocidad de la cicatrización de heridas. Sin embargo, en esta Figura y en la Figura 8 que se refiere también a la velocidad de contracción de la herida pero con un grupo tratado tópicamente con el extracto metanólico de Cuachalalate a 30 mg y con un grupo control, no se muestra tal efecto, esto puede deberse posiblemente a que el Cuachalalate contenga en una mínima cantidad o que carezca de él o los triterpenos encargados de ejercer el efecto sobre la cicatrización de las heridas y así aumentar su velocidad. Además, otro factor

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

que se observó en la Figura 7, es que en la dosis mayor del extracto (100 mg), la velocidad de la contracción de la herida fue ligeramente menor, esto se debió a que al aplicar el extracto sobre la herida se formó una capa del propio extracto que formaba una barrera física y que al mismo tiempo evitó la rápida curación de la herida.

Debido a que no se presentó un efecto dependiente de la dosis en el proceso de cicatrización de las heridas cutáneas, no fue posible calcular la DE_{50}. Sin embargo, en todos los grupos incluyendo al control, se aprecia que al pasar los días la velocidad de contracción de la herida aumenta, esto se debe directamente a la acción de miofibroblastos, que aparecen a los dos ó tres días después de producirse la lesión provocando la contracción activa de la herida y reduciendo su tamaño.

A pesar de lo anterior, se cuantificó la cantidad de colágeno en el tejido lesionado y se realizaron cortes histológicos a los 3, 6, 9, 12 y 15 días después de provocar la lesión para evaluar el efecto del Cuachalalate sobre estos parámetros. Esto se realizó en ratas tratadas y no tratadas con extracto metanólico de Cuachalalate a una dosis de 30 mg, está dosis se tomó como referencia de la literatura (Chithra, *et al.*,1998) en la que se evaluó el mismo efecto cicatrizante del *Aloe vera* a la misma dosis.

En cuanto al periodo de epitelización, se expresó en términos de los días en que la herida cicatrizó casi por completo dado por la síntesis del tejido conectivo y del colágeno, este parámetro se estableció tomando como referencia la contracción de la herida, y se observó que tampoco se presentó una diferencia significativa entre los grupos tratados y el control, esto se refleja en los valores presentes en la tabla 5. En ambos casos la epitelización del tejido se presentó en un 90% a los 15 días.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En cuanto al contenido de colágeno, se muestran los resultados en la Figura 9, expresado por la estimación de hidroxiprolina en mg por 100 mg de tejido húmedo afectado por la herida cutánea. Este análisis bioquímico se realizó a los 3, 6, 9 , 12 y 15 días después de provocar la lesión, mostrando una cantidad máxima a los 9 días después del tratamiento para el caso del control y a los 12 días para el tratamiento. Después de estos días, la cantidad de colágeno disminuyó de manera lenta, esto se debe a que el colágeno por ser la proteína presente en mayor proporción en el cuerpo humano así como en el tejido conectivo, tiene la función de permitir el sostén fisiológico, así como la de permitir una fuerza tensional a los tejidos y tendones, por lo que juega un papel importante en la cicatrización de las heridas, pues esta proteína es sintetizada por los fibroblastos 3 días después de que se produce la herida y se acumula para permitir la epitelización y la remodelación de la cicatriz. Los resultados obtenidos en este análisis bioquímico se muestran en la Figura 9, en la que no se presentó diferencia significativa entre el grupo de tratamiento y el grupo control dado posiblemente al mismo efecto mostrado en la velocidad de contracción de la herida. Para este análisis se realizó una curva estándar de hidroxiprolina (Fig. 10), repetida 3 veces y empleando un rango de concentraciones de 2 a 16 μg/mL (Tabla 6), en la que se presentó dentro de este rango una r^2 de 0.989 a una $p < 0.001$, lo que indica que la absorbancia dependió de la concentración de la hidroxiprolina y que $m \neq 0$.

Para evaluar las fases del proceso de la cicatrización de heridas, se realizó un análisis histopatológico de tejidos de herida de rata Wistar tratados con el mismo extracto y teniendo el mismo grupo control, a los mismo días que se evaluó la cantidad de colágeno. Todo ello se muestra en las figuras de la 11 a la 20 y en sus correspondientes tablas de la 8 a la 12.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la Figura 11, se muestra el tejido teñido de la herida tratada con el extracto metanólico de Cuachalalate 3 días después de haber hecho la lesión, en ésta se observa una cantidad moderada de fibrina debida a la coagulación de la sangre provocada por la hemostasia del propio animal, este fenómeno también fue posible observarlo en la Figura 12 que se refiere al tejido de herida de rata Wistar del grupo control. La fibrina, fue el único componente referente a la hemostasia que se pudo evaluar dado que las plaquetas que juegan un papel importante en este fenómeno, sólo es posible evaluarlas adecuadamente mediante un conteo que por estas tinciones del tejido no pudieron ser apreciadas. La fibrina sólo se presentó en este periodo de tiempo porque la sangre coagulada o el tejido muerto que queda en la herida, es eliminado y limpiado por las células fagocitarias producidas en la fase de la inflamación, pues si está sangre y tejido no se eliminan puede complicar la herida y retardar su curación.

La inflamación en los tejidos se evaluó por la presencia de células sanguíneas tales como los neutrófilos, macrófagos y linfocitos encargados de producir una respuesta quimiotáctica que permite la limpieza de la herida y al mismo tiempo un mecanismo de defensa que impide la entrada de microorganismos que puedan provocar una infección y con ello también retardar el tiempo de cicatrización de la herida. La inflamación se presentó moderadamente a los tres días del tratamiento y tanto en los grupos tratados como en el control, esta respuesta del propio tejido disminuyó con el tiempo y solo se dio ligeramente a los 6 y 9 días después del tratamiento; a los 12 y 15 días la inflamación disminuyó notablemente en ambos grupos. La presencia de neutrófilos se dió ligeramente a los 6 días y desapareció después de este tiempo. Los macrófagos se identificaron moderadamente a los 3 y 6 días en el

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

tratamiento y muy ligeros en el grupo control, lo cual indica que en el tratamiento aumentó la respuesta fagocitaria, estas células se redujeron ligeramente pero no dejaron de presentarse aún a los 15 días después del tratamiento y en ambos grupos. En cuanto a los linfocitos, en el tercer día y en el control su presencia fue moderada, pero en el tratamiento fue ligera, estas células se presentaron ligeramente en ambos grupos hasta el día 12 y desaparecieron a los 15 días después de hacer la lesión.

La fase correspondiente a la angiogénesis, que está determinada por la formación de nuevos vasos capilares y que aumenta al presentarse una herida, también fue posible evaluarla a través del análisis histopatológico. En este caso los nuevos vasos se identificaron como los espacios en blanco en forma de elipses y círculos que se encuentran rellenos de eritrocitos. El desarrollo de nuevos vasos comenzó ligeramente al tercer día en el grupo control, aumentó moderadamente en ambos grupos en el día seis y su formación se incrementó severamente a los 9 días pasando a moderado a los 12 días en los dos grupos, pero a los 15 días permaneció moderado en el control y ligero en el tratamiento. Después de la angiogénesis y en algunas ocasiones al mismo tiempo se presenta la fibroplasia que corresponde la migración, proliferación y diferenciación de fibroblastos encargados de la síntesis del colágeno, así como de los componentes de la matriz extracelular, importantes en la curación de heridas. En los mismos tejidos y bajo los mismos tiempos se evalúo la fibroplasia por la presencia de fibroblastos caracterizados por los puntos morados correspondientes a sus núcleos, así como también, se estimó cualitativamente la cantidad de colágeno identificado como las fibras de color rosa presentes en las figuras y la presencia de proteoglucanos que forman la matriz intersticial de la matriz extracelular. La aparición de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

proteoglucanos fué permanente y moderada en los dos grupos del tratamiento durante todo el periodo de evaluación, lo cual permitió mantener regulada la estructura de la matriz extracelular y estar unidos al colágeno. La migración y proliferación de los fibroblastos se dió de manera moderada en ambos grupos hasta los 9 después de haber provocado la lesión, y a los 12 días continuó igual en el control pero para el grupo tratamiento aumentó severamente en ese mismo día, sin embargo a los 15 días de tratamiento su presencia fue ligera. La cantidad de fibroblastos siempre está relacionado con el depósito de colágeno, el cual incrementó severamente a los 12 y 15 días después de la lesión y en los dos grupos. Estos resultados pueden constatarse con el análisis bioquímico de los tejidos lesionados.

Una de las últimas fases por las que pasa una herida, es la epitelización o periodo en el que se regenera el tejido conectivo y que conlleva a la remodelación del mismo. La formación del tejido conectivo dada por los componentes de la MEC, fue posible observarla muy ligeramente a partir del día 9 en ambos grupos y hasta el día 12, pero a los 15 días éste aumentó severamente sobretodo en el grupo tratado (Fig. 20), así se observa claramente una epitelización continúa, homogénea y una mejor remodelación en toda la lesión del grupo de prueba, a diferencia al grupo control que sólo en una parte de la herida presentó este fenómeno. Mediante este análisis fue posible identificar todas las fases de la cicatrización de heridas y con ello establecer que no se presentó diferencia marcada en las primeras fases entre el grupo de prueba y el grupo control. Sin embargo, en la epitelización y remodelación del tejido conectivo puede observarse que la cicatriz del tejido perteneciente al tratamiento quedó estéticamente más aceptable y mejor formada en comparación con el grupo control.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IX. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio se desprenden las siguientes conclusiones:

- A pesar de que el Cuachalalate se emplea como agente cicatrizante dentro de la medicina tradicional mexicana, bajo las condiciones experimentales en las que se evaluó su efecto cicatrizante, no se mostró alguna diferencia estadísticamente significativa entre el grupo tratado con extracto metanólico de Cuachalalate y el grupo control, ya que no aumenta los niveles de colágeno ni acelera el proceso de cicatrización.

- Dado que no se presentó un efecto dependiente de la dosis, no fue posible establecer la DE_{50}

- De acuerdo a la evaluación de las fases de la cicatrización a través del estudio histopatológico, tampoco se observó una diferencia entre el grupo tratado y el control, sin embargo, al final el grupo tratado con Cuachalalate permitió una mejor epitelización y remodelación de la cicatriz, por lo que el Cuachalalate puede usarse sólo con fines estéticos pues no deja una cicatriz marcada en el tejido aún cuando no se aumenta la velocidad de la cicatrización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

X. PERSPECTIVAS

- Se propone hacer un aislamiento y purificación de los compuestos triterpénicos de la corteza del Cuachalalate para obtenerlos en mayor cantidad y así probarlos bajo las mismas condiciones y evaluar el mismo efecto cicatrizante, para asegurar si los compuestos ya puros ejercen o no un efecto sobre la curación de heridas.

- Para fines estéticos se recomienda emplear el Cuachalalate sobre marcas presentes en el tejido conectivo provocadas por heridas o quemaduras, dado que al usar el extracto metanólico de la corteza se observó una mejoría en la calidad de la cicatriz.

- Es recomendable que mediante un modelo para estudiar el envejecimiento de la piel y su remodelación después de sufrir una herida o una quemadura, se evalúe el efecto del Cuachalalate en estas patologías, ya que quizá el Cuachalalate puede actuar durante la remodelación del tejido conectivo sobre las metaloproteinasas, enzimas que ejercen su acción en esta fase en el colágeno amorfo y el tejido lesionado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XI. BIBLIOGRAFÍA

Aldaba V. (1931). The Dallasfishery of lagoon de bay. *Philosophical Journal of Science*. 45: 41-59.

Arenas P. Moreno A. (1977). Plants of common uses in Paraguayan folk medicine for regulating fertility. *Econ Bot*. 31: 298-301.

Barnun N. Mayer A. Sharon N. (1981). Properties of laccase in Schinus molle. *Phytochemistry*. 20(3): 407-408.

Berdy J, Aszalos A, Bostian M. (1982). Handbook of antibiotic compounds. Press. Part 2. p. 255.

Bernal H, Correa J. (1989). Cordia alliodora. En Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello.Tomo II. Ed. Guadalupe. p. 334-349.

Bernal H. Correa J. (1992). Myroxylom balsamum. En Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello. Tomo VIII. Ed. Guadalupe. p.436-449.

Bitter T. Muir H. (1962). A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical Biochemistry*. 4: 330 – 334.

Bohlmann F. Zdero C. (1977). Naturally occurring terpene derivative and a class of dihydrocinamy alcohol derivatives from *Schkuhria* species. *Phytochemistry*. 16: 780-781.

Bowman W. (1990). Textbook of Pharmacology. 2nd ed. Blackwell. Oxford.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Breen M. Knepper P. Weinstein H. Black L. Lewandowski D. Baltrus B. (1981). Microanalysis of glycosaminoglycans. *Analytical Biochemistry.* 113: 416 – 422.

Castro O. López J. Vergara A. (1986). Isoflavons and a stilbene from wood of decay-resistant tropical tree *Diphysa robinioides. Journal of Natural Products.* 49: 680-683.

Chandrasoma P. Taylor C. (1994). Patología General. Ed. El Manual Moderno. México. p. 87 – 98.

Chithra P. Sajithlal G. Chandrakasan G. (1998). Influence of *Aloe vera* collagen characteristics in healing dermal wounds in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 181: 71 – 76.

Chithra P. Sajithlal G. Chandrakasan G. (1998). Influence of *Aloe vera* on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 59: 179 - 186.

Chithra P. Sajithlal G. Chandrakasan G. (1998). Influence of Aoe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 59: 195 – 201.

Corea P. Arias J. Pérez R. Carbonell M. (1975). Texto de Patología. 2ª ed. Ed. La Prensa Médica Mexicana. México.

Correa J. Bernal H. (1990). *Caesalpinia spinosa* en Especies Vegetales Promisorias de los países del convenio Andrés Bello. Tomo III. Ed. Guadalupe. Colombia. p. 231-236.

Diáz G. (1974). Índice y sinonimia de las plantas medicinales de México. IMEPLAM. México.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Domínguez X, Alcorn J. (1985). Screening of medical plants used by Huastec Mayans of North Eastern Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*. 13(2): 139-156.

Domínguez X, Franco R, García S, Porras E, Vázquez G, Amescua B. (1983). Plantas medicinales Mexicanas XLVIII: Estructura del ácido instipolinácico separado de la corteza de cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*). *Revista Latinoamericana de Química*. 14: 99-100.

Dvorak H. (1995). Vascular permeability factor vascular endothelial growth factor, microvascular hypermeability, and angiogenesis. *American Journal of Pathology*. 146: 1929.

Elson L, James W. (1933). A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine. *The Biochemical Journal*. 27: 1824 – 1828.

Estrada L. (1985). Avances en las investigaciones sobre plantas medicinales en la Universidad Autónoma Chapingo y Colegio de Posgraduados. Chapingo, Estado de México. Mimeógrafo. Departamento de Fitotecnia, Sección plantas medicinales, Universidad Autónoma Chapingo.

Garza F. (1999). Herbal composition for hemorrhoid treatment. Houston, USA. Patent 5869059 424/725.

Ginzbarg S. (1977). Plantas medicinales de los Indios Bribris y Cabécares. América Indígena. 37: 367-398.

Gibson R. (1983). Australian fish, an excellent source of both arachidonic acid and 3 polyunsaturated fatty acids. Lipids 18. p. 743-752.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

González C, Hersch O, Juárez A, Pérez A. (2000). Plantas medicinales de Copalillo y Temalac Guerrero. Actores Sociales de la Flora Medicinal en México. Serie Patrimonio vivo. Instituto Nacional de Antropología e Historia.

González E, y Delgado J. (1962). Phytochemical investigation of *Amphipterygium adstringens*. *Journal of Pharmacology Science*. 51: 901 -905.

Grindlay D, Reynolds T. (1986). The *Aloe vera* phenomenon: A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *Journal of Ethnopharmacology*. 16: 117-151.

Gupta M. (1995). 270 Plantas medicinales iberoamericanas. Ed. Convenio Andrés Bello. Colombia.

Hernández J, Delgado G. (1992). Terpenoids from aerial parts of *Croton draco*. *Fitoterapia*. 63: 16-17.

Houghton P, Hikino H. (1989). Anti-hepatotoxic activity of extracts and constituents of *Buddleja* species. *Planta Medica*. 123-126.

House P, Lagos W, Torres C. (1981). Manual Popular de 50 Plantas Medicinales de Honduras. Tegucigalpa, Honduras. p.112.

Itokawa H, Shirota O, Ikuta H, Morita H. (1991). Triterpenes from *Maytenus ilicifolia*. *Phytochemistry*. 30: 3713-3716.

Kanzaki T, Morisaki N, Shiina R, Saito Y. (1998). Role of transforming growth factor-β pathway in the mechanism of wound healing by saponin fron Ginseng Radiz rubra. *British Journal of Pharmacology*. 125. 255 – 262.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Kumar V. Cotran R y Robbins S. (1999). Patología Humana. 6ª ed. Ed. McGraw-Hill. México. p. 51-64.

Lucero M. Vigo J. León M. Martín F. Sánchez J. (1996) Therapeutic efficacy of hydrophilic gels of α-tocopherol and tretinoin in skin ulcers induced by adriamycin hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutics*. 127. 73-83.

Mantle D. Muhamed A. Lennard T. (2001). Adverse and beneficial effects of plant extracts on skin and skin disorders. *Adverse Drug Reactive Toxicologycal Review*. 20: 89 – 103.

Márquez C. Lara F. Esquivel B. Mata R. (1999). Plantas Medicinales de México II. Composición. usos y actividad biológica. UNAM. México.

Martínez M. (1979). Catálogo de nombres vulgares y científicos de Plantas Mexicanas. Ed. Fondo de Cultura Económica. México. p. 298.

Mata R. Calzada F. Navarrete A. Del Río F. Delgado G. (1991). Long-chain phenols from the bark of *Amphipteterygium adstringens*. *Journal Ethnopharmacology*. 34. 147-154.

Maquart F. Bellon G. Gillery P. (1990). Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by a triterpene extrated from *Centella asiática*. *Connective tissue Research*. 24: 107-120.

Meisenberg G. Simmons W. (1998). Principles of Medical Biochemistry. Ed. Mosby. USA. p. 257 – 278.

Mendieta R. Del Amo S. (1981). Plantas Medicinales del Estado de Yucatán. Xálapa. INIREB.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Mezquita M. (2000). Control de calidad y formulación de tabletas de *Tanacetum parthenium* por Compresión directa. Tesis de Maestría. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

Miyagoshi M. Takeda T. Nakamuram T. Ogihara Y. (1990). Studies on the glycosides from Buddleja Americana. *Shoyakugaku Zasshi*. 44: 167-168.

Morton J. (1977). Some Folk-medicine plants of Central American markets. Quart. *Journal of Crude Drug Research*. 15: 165.192.

Morton J. (1981). Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Charles C. Thomas Publisher. Springfield. pág. 829-831.

Navarrete A. (1982). Estudio químico y pruebas farmacológicas preliminares de la corteza de Jilianea adstringens (Cuachalalate). Tesis Profesional. Químico Farmacéutico Biológico. ENEP Zaragoza. UNAM.

Navarrete A. Mata R. Delgado G. (1989). Alkylanacardic acids from *Amphipterygium adstringens*. *Planta Médica*. 55: 579.

Navarrete A. Reyes B. Silva A. Sixtos C. Islas P. Estrada E. (1990). Evaluación farmacológica de la actividad antiulcerosa de *Amphipterygium adstringens* (Cuachalalate). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéutica*. 21: 28-32.

Navarrete A. Martinez L. Reyes B. (1998). Gatroprotective Activity of the Stem Bark of *Amphipterygium adstringens* in Rats. *Phytotherapy Research*. 12: 1-4.

Navarrete A. Trejo J. Reyes L. (2002). Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 79. 383-388.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Olivera A, Soto M, Martínez M, Terrazas T, Solares F. (1999). Phytochemical study of Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*, Shiede ex Shlecht). *Journal of Ethnopharmacology*. 68; 109-113.

Ortiz de Montellano B. (1975). Empirical Aztec Medicine. Science: 188: 215-220.

Pérez R, Pérez C, Pérez M. (1993). A new triterpenoid fron the bark of *Juliana adstringens*. *International Journal of Pharmacognosy*. 31: 185-188.

Pérez G, Yescas L, Walkowski A. (1981). Diuretic activity of *Mexican Equisetum*. *Journal of Ethnopharmacology*. 14: 269-272.

Postlethwaite A. (1995). Role of T cells and cytokines in effecting fibrosis. *International Review of Immunology*. 12: 247.

Quintanar D, Ávila J, Arroyo G. (1994). Estudio de las propiedades fotoprotectoras-cosméticas del extracto de *Amphipterygium adstringens* (Cuachalalate). *Ciencia Cosmética*. 1: 16-17.

Rimando A, and col. (1987). Screening of mast cell histamine release inhibitory activity of Phillipine medicinal plants. Active constituent of *Ehretia microphylla*. Shoyakugaku Zasshi. 41: 242-247.

Robyt J, White B. (1987). Biochemical Techniques. Theory and practice. Brooks Cole Publishing Company. USA. pág. 213 – 216.

Rosenstein E. (1998). Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 44 ed. Ediciones PLM, S.A. México.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Rubin E. Farber J. Patología. Fundamentos. (1992). Ed. Panamericana. México. pág. 36 – 51.

Rzedowsky J. (1978). Vegetación de México. Edit. Limusa. México.

Saringat B. Sheikh K. (2000). The wound healing properties of *Channa striatus*-cetrimide cream-wound contraction and glycosaminoglycan measurement. *Journal of Ethnopharmacology.* 73: 15 – 30.

Saringat B. Sheikh K. (2000). The wound healing properties of Channastriatus-cetrimide cream – tensile strength measurement. *Journal of Ethnopharmacology:* 71: 93 – 100.

Secretaría de Salud. (2002). Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. México.

Serna B. Amor A. Martínez M. (1988). Caracterización Química preeliminar de *Justicia pectorales. Journal of Natural Products.* 51: 599-600.

Shiseido Co. LTD. (1998). The hyaluronic acid promoter contains solvent extract of Cuachalalate *Julianaia adstringens*. Japón. Patent. JP-0027762 19980126.

Shukla A. Rasik A. Shankar R. (1999). Nitric oxide inhibits wound collagen synthesis. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 200: 27 – 33.

Shukla A. Rasik A. Dhawan B. (1999). Asiaticoside – induced Elevation of Antioxidant Levels in Healing Wounds. *Phytotherapy Research.* 13: 50 – 54.

Smith R. Gilkerson E. Kohatsu N. Merchant T. Schurman J. (1980). Quantitative microanalysis of synovial fluid and articular cartilage glycosaminoglycans. *Analytical Biochemistry.* 103: 191 – 200.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Soriano G, Toscano R, Ortiz B, Navarrete A, Sánchez O, Barrios H, Yuste F. (1987). Structure and stereochemistry of the methylester of (5α, 13α, 14β, 17α, 20 S, 24 Z) -3-oxolanosta-7, 24-dien-26-oic acid (masticadienonic acid). Acta Cristallographyca C43: 990-992.

Suguna L, Sivakumar P, Gowri C. (1996). Effects of *Centella asiatica* extract on termal wound healing in rats. *Indian Journal of Experimental Biology.* 34: 1208-1211.

Timor C. and col. (1990). Fraccionamiento y purificación del extracto acuoso de *Justicia pectorales* con propiedades sedantes. Resúmenes VI Jornada Científica Empresa Laboratorio "Mario Muñoz". La Habana.

Tsuru T, Tshimi K, Kusama K. Hair tonic agent contg. Extract of Juliana plants. Japón. Patent. JP080792 18131392.

Tyler V, Brady L, Robberts J. (1988). Pharmacognosy. 9th ed. Ed. Lea & Febiger. Philadelphia. p.153.

Vademecum (2000). Farmacéutico digital. 9a ed. Información Profesional Especializada. Reza editores.

Watson W, Domínguez X, Vázquez G, García S. (1987). Cuachalalic acid, a new triterpene from *Amphipterygium adstringens.* *Revista Latinoamericana de Química.* 18: 89-90.

Woessner J. (1961). The determination of hydroxyproline in tissue and protein simples containing small proportions of this imino acid. *Archieves of Biochemistry and Biophysics.* 93: 440 – 447.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XII. APÉNDICE

Tabla AI. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (Gupta, 1995; Márquez *et al.*, 1999).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Taxodium mucronatum	Ahuehuete, sabino y ciprés.	Taxodiácea	Árbol de 20 a 30 m de altura, de tronco recto y de hojas de 6 a 12 mm de largo. Se distribuye en Sonora, San Luis Potosí, Guanajuato y Veracruz.	Flavonoides y triterpenos como la 3-O-β-D-glucósido de quercetina, podocarpusflavo-na, ácido 8, β-hidroxi-primar-15-en-19-oico.
Galphimia glauca	Árnica roja, flor estrella, ojo de gallina, hierva de cuervo.	Malpingiácea	Arbusto con hojas aovadas verdes; flores amarillas en racimos, y fruto en forma de cápsulas pequeñas con semillas negras. Distribuida en San Luis Potosí, Guerrero, Morelos y Oaxaca.	Compuestos fenólicos y triterpenos, p. ej. el ácido tetragaloilquinico, ácido gálico, galato de metilo, ácido elágico y galfimina A y B.
Hamelia patens	Balletilla, Chapote, matasano, iztactzapotl y cochitzapott.	Rubiácea	Arbusto con hojas delgadas, flores rojas o anaranjadas y frutas esféricas color negro. Distribuida en Chiapas, Puebla, Quintana Roo.	Alcaloides, flavonoides, esteroles, antocianinas y triterpenos.
Hippocratea excelsa	Cancerina, matapiojos, bejuco de piojo.	Hipocrateácea	Bejuco leñoso, con corteza café rojiza, flores blancas de pétalos abovados y con frutos elípticos capsulares. Su distribución es en Durango, Guerrero y Puebla.	Triterpenoides, esterol, alcaloides, canofilol, canofilal, ácido canofílico, friedelina, celastrol, β-sitosterol, friedelina.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Tabla A1. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Hintonia latiflora	Copalquín, copialchile, palo amargoso, cáscara sagrada.	Rubiácea	Arbusto de tallo grisáceo y hojas vellosas en el reverso; flores blancas y fruto negro con verrugas amarillas. Se distribuye en Durango, Nayarit, Michoacán y Edo. de México.	Triterpenoides, fenileumarina, flavonoides, 6-O-β-D-glucopiranosil-2-3'-4'-trihidroxi-4-metoxi-α-fenilestireno.
Sida rhombifolia	Escobilla, malvilla, malva, escobillo, malva blanca, malva dorada.	Malvácea	Arbusto con tallos ramificados; hojas anchas del centro; flores amarillas y frutos puntiagudos color verde. Se distribuye en el sur de México.	Esteroles, quinazoles, aminoácidos, ácido malválico, fitosterol, ácido estercúlico, betaina, colina.
Guazuma tomentosa	Guázima, caolote prieto, bellota de cuaulote, palo de olote.	Estereuliácea	Arbusto con hojas aovadas, flores pequeñas aromáticas verdeamarillentas o blancas, y frutos ovoides color negro.Distribuida en Veracruz, Morelos, Guanajuato, Tabasco, Campeche.	Triterpenoides, cumarinas, glucósidos de esterol, triterpenos.
Euphorbia próstata	Hierba de la golondrina, golondrina blanca.	Euforbiácea	Planta de 15 m de altura, de tallos rectos y muy ramosos, hojas redondeadas, semillas aovadas y rugosas. Es distribuida en San Luis Potosí, Durango, Guanajuato, Veracruz, Sonora y Jalisco.	Taninos, esteroles, aminoácidos, p. ej., euforbinas G y H, ácido gálico, geranina, β-sitosterol, estigmasterol., ALA, acetato de β-amirina.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla AI. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Jatropha curcas	Piñón	Euforbiácea	Arbusto con hojas acorazadas divididas en 3 o 5 picos que a su vez forman un corazón, frutos ovoides con semillas de 2 cm de largo.	Amilasa, β-D-glucósido de b-sitosterol, α-amirina, estigmasterol, vitexina, campesterol.
Guphea aequipetala	Hierba del cáncer, petalillo, hierba de ángel, zapotillo, florecita roja.	Litrácea	Hierba de 30 a 40 cm de longitud que se extiende hasta el suelo, sus tallos están cubiertos de pelos color violeta o rojizo, con flores pequeñas color violeta. Distribuida en Puebla, Morelos, Michoacán, Querétaro, Coahuila, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Guanajuato, Estado de México, Veracruz, Chiapas.	No se han reportado.
Solanum marginatum	Sosa	Solanácea	Arbusto de tallos espinosos y hojas grandes cubiertas de vellos color rojo y flores blancas en forma de estrella. Distribuida en Puebla e Hidalgo.	Solamargina, campesterol, solasodina.
Tanacetum parthenium	Santa María, Chapote, matasano, hierba Santa, hierba de altamia, cochitzapotl.	Asteraceae	Arbusto de 30 a 100 cm de altura, presenta olor desagradable, velluda, hojas verdes, flores con pétalo blanco. Con sabor amargo. Se distribuye en Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Morelos, Edo. de México.	Partenólida, alcanfor, acetato de crisanterol, santamarina, santina, crisanteminas A y B.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla AI. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Solanum americanum	Hierba mora, quelite mora, verbena, hoja de zalazar.	Solanácea	Hierba de 1 m de altura, hojas de diferentes tamaños distribuidas en pares, flores blancas, fruto globoso color verde que cambia a negro cuando madura. Se distribuye en Puebla, Quintana Roo, Chiapas, Yucatán, Veracruz, Tamaulipas, Campeche.	Antocianinas, 5-glucósido de malvidin-3-soforósido, diosgenina, tigogenina, aesculina, glucósidos, alcaloides, sapogeninas.
Mirabilis jalapa	Maravilla, linda tarde.	Solanácea	Hierba de 80 cm de altura, ramosa con tallos nudosos. Hojas alargadas y flores en forma de trompetitas que pueden ser color rosa, amarillo o blanco. Con frutos pequeños y secos que no se abren. Se distribuye en los Estados de México, Oaxaca, Veracruz, Chiapas, Tlaxcala.	Péptidos, triterpenos, proteínas, esteroides, flavonoides, polisacáridos, aminoácidos, β-sitosterol, estigmasterol, trans-fitol, α-amirina.
Croton draco	Targuá y targuá colorado.	Euphorbiaceae	Árbol de hasta 15 m de altura, con copa abierta y aromática; presenta hojas maduras de color rojizo, flores en racimos de color blanco y frutos en cápsula trilobadas explosivas. Crece abundantemente en áreas abiertas a la orilla de ríos del Valle Central de Costa Rica.	De los estudios realizados a este árbol, se reporta la presencia de diterpenos en la corteza, forbol en las semillas y β-sitosterol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla AI. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Kohleria deppeana	Tlalchichinule, campanita, flor de cacahuate, valletila, tlachichinoa, tochimitillo, clanchinchol.	Gesneriácea	Planta semiherbácea de 1 a 2 m de altura, cubierta por tomento denso de color rojizo, hojas opuestas ovaloblongas, flores rojas que crecen en grupos de cuatro, fruto cápsular. Se distribuye en Morelos, Hidalgo, Puebla, Guerrero, Veracruz, Chiapas y Oaxaca.	β-sitosterol, ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido 2-β,3-β-dihidroxi-olean-12-en-28 oico, β-D-glucosil-sitosterol.
Karwinskia humboldtiana	Tullidora, coyotillo, capulincillo, palo negrito, cacachila china.	Ramnácea	Planta pequeña de 50 cm de altura con hojas membranosas deltoideas, ovales y agudas. Distribuida en Durango, Veracruz, Jalisco, Yucatán, Nuevo León, Chihuahua, Oaxaca.	Derivados de antraquinona, dimetilbenzoiso-cromato, toxinas, flaconas, flavonoides y derivados de diantraquinona.
Schkuhria pinnata	En Argentina es conocida como: mata pulgas, cachala-gua; en Bolivia como: canchalagua, jayakpichana, piki pichana y cachalawa, y en Perú como canchalagua	Asteraceae	Es una hierba que crece anualmente, erecta, ramosa, con tallos estriados y ásperos; hojas pinnitisectas y flores amarillas dimorfas. Es originaria de América del Sur y es común en Argentina.	β-sitosterol, estigmasterol, taraxasterol, α- y β-espinasterol; se reportan diversos sesquiterpenos y flavonoides

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla A1. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Justicia pectorales	Cerebral, tilo criollo, tilo cubano, té criollo, carpintero, hierba de San Antonio, hierba de carpintero y suelda con suelda	Acanthaceae	Es una planta silvestre que crece en las zonas montañosas de las provincias centrales y orientales de Cuba, es nativa de los trópicos de América, se encuentra tanto en las Antillas como en la zona continental de América.	En liofilizados de extracto acuoso se han identificado algunos aminoácidos, cumarinas, flavonoides, betaína, β-sitosterol, ácido palmítico, entre otros
Schinus molle	Mulli, molle, bálsamo sanalotodo, pimentero, pimiento, muelle, huiñan, anacahuita y aguaribay.	Anacardiaceae	Es una especie nativa de Perú; se encuentra en los Andes, en Chile, México, el sureste de Brasil, Uruguay, Bolivia y Ecuador	En los frutos se han identificado la cianidina-3-galactósido, cianidina-3-rutinósico y peonidina-3-glucósido; en corteza y hojas: ácido linoléico, lignocérico y esteárico.
Marsdenia condurango	Condurango, bejuco del cóndor y bejuco de sapo.	Asclepiadaceae	Planta perenne con hojas opuestas, sencillas, cordiformes de color verde oscuro; con flores y frutos capsulares color café oscuro. Es nativa de las montañas de Ecuador, especialmente de las laderas occidentales de la zona de la Loja	De su corteza se han aislado la calotropina, vincentóxidos, vusetoxina, kendurina y glucósidos, por hidrólisis desprende ácido cinámico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla AI. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Eupatorium glutinosum	Matico, chuzalongo, matigo, migla y hierba de soldado.	Asteraceae	Es un arbusto que 1 a 3 m de altura, con ramas grises; crece en los bordes de los caminos, entre los matorrales y ha sido usada desde los aborígenes.	De las hojas se han aislado varios compuestos triterpénicos como el friedelinol, la friedelina, la δ-amirenona, el acetato dammaradienilo y algunos diterpénicos
Pseudognapha-lium viravira	Hierba de la vida, siempre viva, hierva de la diuca, dinka-i-awen y vira-vira.	Asteraceae	Es una hierba perenne, muy común en las laderas asoleadas; tiene hojas oblongas de color gris, sus flores se presentan en racimos de color amarillo. Se distribuye en Chile.	Taninos pirocatéquicos en un 7.22%; resinas en un 1.75% y una pequeña proporción de alcaloides. Triterpénicos, esteroles, β-sitosterol, glucósidos, antraquinosas y flavonoides.
Spilanthes oppositifolia	Conocida en Colombia como: botón de oro, botoncillo, chisacá, guaca, risacá, quemadera e yuyo quemado; en Ecuador como botoncillo.	Asteraceae	Hierba con tallo ascendente, ramosa y laxamente hojosos; con hojas opuestas y ovaladas, y flores amarillas dimorfas. Se distribuye en América tropical y templada desde Missouri y las Carolinas del norte hasta el sur de Argentina.	A partir del extracto con éter de petróleo se aisló el compuesto N-isobutildeca-5-ino-8-eno-trans-amida; así como también el taraxasterol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla AI. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Tabebuia rosea	En Costa Rica son: roble de sabana y roble blanco; en Guatemala: mastilisguate, roble blanco, yazte y palo blanco; y en Panamá: roble y encina	Bigniaceae	Árbol perenne 25 a 30 m de alto, corteza con fisuras verticales, gris opaca o negruzca. Hojas palmitocompuestas, fruto cápsular linear-cilíndrico atenuado en los extremos con semillas aladas. Es distribuido desde el sur de México a Venezuela.	Acido cafeico, p-hidroxicumárico, p-cumárico, ferúlico y gentísico, β-sitosterol, y tecomaquina
Tecoia stans	Conocida en Guatemala como timboco, barreto, chaeté, flor amarillo, San Andrés, timboque, trompeta y tronadora.	Bignoniaceae	Árbol de hasta 12 m de altura, con ramas cayentes, hojas deciduas y opuestas. Con semillas pequeñas, alargadas de color café claro. Es nativo de México, Centro y Sudamérica.	Sus hojas contienen alcaloides, triterpenoides, compuestos fenólicos y glucósidos .
Cordia alliodora	Laurel de Puná, laurel blanco y ajo de montaña.	Boraginaceae	Árbol de hasta 20 m de altura, tallos y ramas con tricomas estrellados. Hojas elípticas, flores y frutos cilíndricos. Crece en bosques secos disturbados en la región de la costa en bosque húmedo tropical en el oriente de Ecuador.	Alliodorina e hidroquinonas, terpenoides, cordiacromeno A, cordiaquinol, allioquinol, cordiodorol y cordalinol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla A1. Plantas medicinales empleadas para cicatrizar heridas (continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRES COMUNES	FAMILIA	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	COMPUESTOS AISLADOS
Buddleja americana	En el Salvador son: salvia y salviona; y en Nicaragua: tepozán y hoja blanca.	Buddlejaceae	Arbusto aromático de 1-5 m de altura, muy común en zonas cálidas; con ramas tormentosas; flores aglomeradas y fruto capsular pequeño. Distribuido en México, Guatemala, El Salvador.	Glucósidos saponínicos, alcaloides, taninos, esteroles y triterpenos
Maytenus ilicifolia	Espinera santa, cancerosa, hierba cancerosa, espinho de Deus, salva-vidas, sombra de toro, maiteno, cancerosa y congorosa	Celastraceae	Arbusto de hasta 3 m de altura parecido al muérdago, con hojas alternas oblongadas, flores pequeñas y fruto encapsulado color verde o rojizo. Es una planta indígena común en los bosque de Uruguay.	Acido clorogénico, δ-amirina, taninos, triterpenos quinoides, triterpenos dímeros, flavonoides, ansamacrólidos y glucósidos.
Equisetum giganteum	Cola de caballo, chicote de fraile, rabo de cávalo, cavalinha, cauda de cavalo.	Equisetaceae	Planta perenne, robusta y áspera; con tallo erecto de hasta 3 m de altura, color verde, articulado y hueco; con ramas verticiladas; hojas escamiformes. Crece en América, en lugares pantanosos como Argentina.	Ácido salicílico, esteroides, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, taninos y ácido aconítico.

TESIS CON
FA