

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

ZARAGOZA

Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto acuoso de *Ipomoea murucoides* (cazahuate) en un modelo de ratón CD1.

TESIS

Que para obtener el título de  
Químico Farmacéutico Biólogo

PRESENTA:

Reyes Vazquez Elvia

**DIRECTOR DE TESIS: Dr. Rubén Marroquín Segura**

**ASESOR DE TESIS: M.C. Maurilio Flores Pimentel**

México, D.F.

2014





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## Agradecimientos

Le agradezco infinitamente a Dr. Rubén Marroquín y al profesor Maurilio Flores que desde el primer día creyeron y confiaron en mí.

Así también agradezco el apoyo y colaboración de los miembros del jurado: Mtra. Yolanda Flores Cabrera, Dra. Ma. Isabel Soto Cruz y Q.F.B. Esperanza Jiménez Castañeda.

A Araceli Fernández por el apoyo que me brindó para la terminación de este proyecto.

A Isaac López por ayudarme en la parte experimental de este trabajo.

A la UNAM por ser mi casa durante tantos años desde el bachillerato hasta la universidad.

## Dedicatorias

A dios porque con cada latido de mi corazón me demuestra lo mucho que me ama y que nunca me deja sola, gracias dios por la segunda oportunidad de continuar con mi sueño.

A mis padres Elia y Rolando, porque sin pedir nada a cambio siempre estuvieron cuando más los necesite y a pesar de todo siempre creyeron en mí, por inculcarme valores y enseñarme a luchar por lo que uno quiere, por hacer que lo difícil fuera fácil y lo imposible posible. No me alcanzaría la vida para pagar y agradecer todo cuanto han hecho por mí, los amo y mis triunfos son de ustedes también.

Dios desde el día de mi nacimiento me dio el mayor de los tesoros a los mejores hermanos: Joaquín, Claudia, Sandra, Arturo y a Kevin el angelito de mi vida, gracias por formar parte de mi vida y por acompañarme en cada momento los amo.

Hoy a pesar de que físicamente no están presentes siempre vivirán en mi corazón, y desde donde estén este sueño es por ustedes Adelaida, Epigmenio y Juana, siempre los amaré.

A ti que me llevaste de tu mano y sin importar el hambre o el frío siempre estabas allí con una palabra de aliento acobijándome y no dejaste que me rindiera, a ti que me has dado tu amor incondicional y que caminaste conmigo a lo largo de este sueño que hoy es una realidad, gracias

Aldo Victoria, siempre te llevo en mi corazón amor.

No puedo dejar de mencionar a mis tres grandes hermanas que fueron una parte fundamental a lo largo de mi formación Luz Elena, Sandra Anahí y Lizet Yaredi, gracias por brindarme su amistad las

quiero mucho niñas.

Gracias niños por compartir momentos inolvidables: Ariadna, Rosa Adriana, Cindy, David, Diego,

Magui, Michel, Oscar los quiero mucho niños.

## Contenido

1. Introducción .....	7
2. Marco teórico .....	9
2.1. Mecanismo de cicatrización .....	9
2.2. Hemostasia .....	9
2.3. Inflamación.....	12
2.4. Fase proliferativa.....	17
2.4.1. Síntesis de colágeno .....	18
2.4.2. Depósito de matriz.....	19
2.4.3. Angiogenia .....	19
2.5. Fase de remodelación o de contracción .....	22
3. Factores que afectan el proceso de cicatrización .....	24
4. Tipos de cicatrices.....	26
5. Plantas medicinales y reactivo biológico .....	28
5.1. Plantas medicinales.....	28
5.2. <i>Ipomoea murucoides</i> .....	29
5.3. Madecassol .....	31
5.4. Ratón de laboratorio .....	33
6. Planteamiento del problema .....	36
7. Objetivo general.....	37
8. Hipótesis .....	38
9. Diseño experimental .....	39
9.1. Tipo de estudio.....	39
9.2. Población de estudio .....	39
9.3. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación. ....	39
9.4. Variables.....	39
9.5. Material y métodos.....	39
9.5.1. Material y reactivos.....	39
9.5.2. Métodos.....	42
9.5.2.1. Preparación el extracto acuoso de <i>Ipomoea murucoides</i> .....	42
9.5.2.2. Realización del experimento.....	43
9.5.3. Cuantificaciones séricas .....	44

9.5.3.1. Cuantificación de ceruloplasmina .....	44
9.5.3.2. Cuantificación de nitritos (modificada) .....	45
9.5.4. Ensayo de toxicidad .....	46
10. Resultados .....	48
11. Análisis de Resultados .....	57
12. Conclusiones .....	60
13. Perspectivas.....	61
14. Referencias .....	62

## 1. Introducción

La OMS define a las plantas medicinales como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos, estima que el 80% de las personas en regiones menos desarrolladas emplean la medicina tradicional con plantas para el cuidado de la salud. Este conocimiento popular está basado en la eficacia, es decir, se acepta o adopta lo que se ve que sirve, lo demás cae en desuso.

Casi siempre en la planta se encuentran varios principios activos, de los cuales uno de ellos determinará la importancia de la especie para alguna aplicación. Estos principios activos, no se distribuyen en forma homogénea por todo el cuerpo de la planta, sino preferentemente en las flores, las hojas o las raíces y a veces en las semillas, los frutos o en la corteza; estos principios activos tienen actividades biológicas tales: actividad antiinflamatoria, antiparasitaria, antibiótico, cicatrizante, entre otras.

La cicatrización de las heridas comienza cuando se pierde la integridad de la piel, es un proceso de reparación que conduce a regenerar el epitelio y a reemplazar la dermis con un tejido fibroso constituido por colágeno. A pesar del mayor conocimiento y del desarrollo de intervenciones cada vez más sofisticadas existen muchos casos de heridas de difícil cicatrización.

México es un país de gran riqueza biológica, diversidad de ecosistemas y variabilidad genética debido a su topografía y variaciones climáticas. En particular, posee gran variedad de plantas útiles para el hombre: plantas que producen medicinas, combustibles, vestimenta, refugio o satisfacen necesidades culturales. México ocupa el cuarto lugar entre los países



considerados con mega diversidad biológica y posee cerca del 10 por ciento del total de especies conocidas con gran número de endemismos. Se han identificado y registrado 4,000 especies con atributos medicinales (15% de la flora mundial); entre 3,500 a 4,000 son empleadas por la población mexicana; 3,600 se recolectan de forma silvestre; 1,500 son utilizadas sin procesar; 370 se cultivan en el huerto familiar o de manera comercial. La validación química, farmacológica y biomédica sólo se ha llevado a cabo en un 5% de las especies.

En este trabajo se evaluó la actividad cicatrizante del extracto acuoso de *Ipomoea murucoides* (cazahuate) sobre escisiones de ratón, ya que esta planta es usada dentro de la medicina tradicional como cicatrizante sobre afecciones de la piel, también es utilizada para procesos inflamatorios, caída del cabello dolor de muelas, tos. Sin embargo no se encontró reportes de trabajos experimentales que lo validen, por lo que fue de nuestro interés realizar el presente trabajo.

## 2. Marco teórico

### 2.1. Mecanismo de cicatrización

Cuando se produce una herida, se desencadena una serie de fenómenos biológicos destinados a reparar la lesión, que en conjunto se denominan proceso de cicatrización. El proceso puede finalizar con la reparación completa de la lesión, sin secuelas funcionales y estéticas.

### 2.2. Hemostasia

Inmediatamente después de que se corta o se rompe un vaso, el estímulo del traumatismo del vaso hace que la pared se contraiga; esto reduce instantáneamente el flujo de sangre del vaso roto. La contracción es el resultado de reflejos nerviosos, de un espasmo miogénico local y de factores humorales locales de los tejidos traumatizados y de las plaquetas sanguíneas.

La vasoconstricción es la primera respuesta hemostática que tiene lugar tras la lesión de un vaso y se debe fundamentalmente a la acción de la musculatura lisa del vaso. Tras la vasoconstricción, las plaquetas empiezan a agregarse al colágeno subendotelial que queda expuesto tras la agresión del vaso.

Este proceso requiere la presencia del factor Von Willebrand, sintetizado por las células endoteliales para posteriormente unirse al factor VIII de la cascada de coagulación. Entretanto, los gránulos plaquetarios liberan adenosina difosfato (ADP), el cual favorece la agregación plaquetaria. A partir de los fosfolípidos plaquetarios se libera ácido araquidónico que por la acción de la ciclooxigenasa se transformará en prostaglandina G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>) y prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), endoperóxidos cíclicos, la PGH<sub>2</sub> se transformará en tromboxano

A2 por la acción de la tromboxanosintetasa, el tromboxano A2 induce la liberación de más ADP favoreciendo más la agregación plaquetaria. Las plaquetas agregadas interactuarán con trombina y fibrina, entrelazándose y originando así el coágulo.<sup>1</sup>

La cascada de coagulación. Tiene por objetivo convertir la protrombina en trombina formándose así un entramado de fibrina. Para ello quedan involucrados dos sistemas que interactúan entre ellos.

Sistema intrínseco: Implica únicamente componentes normalmente presentes en la sangre, el factor XIIa (amplificado por la acción de la precalicreina y de cinogenos de alto peso molecular) activa el factor XI (XIa), este con la presencia de calcio activa el factor IX (IXa), el cual se unirá al factor VIII, al calcio y al factor plaquetario 3 para activar al factor X (Xa), el factor Xa junto con el factor V convierten la protrombina (factor II) en trombina. En este momento tiene lugar la hidrólisis de pequeños péptidos a partir de fibrinógeno (factor I) por acción de la trombina, produciendo así monómeros de fibrina, estos monómeros de fibrina formarán un entramado gracias a la acción del factor XIIIa (activado por la trombina) para formar un coágulo estable.<sup>1</sup>

El sistema extrínseco requiere la presencia de un fosfolípido tisular llamado tromboplastina. El factor VII formará un complejo con calcio y tromboplastina (también llamada factor III) para activar el factor X (Xa). Durante la adhesión plaquetaria se liberó factor del complejo IXa-VIIIa-calcio que activa el factor X (Xa). Los siguientes pasos del proceso son semejantes a los de la vía intrínseca.<sup>1</sup>

El sistema fibrinolítico es fundamental para el mantenimiento de la hemostasia, ya que es el encargado de regular el balance entre la síntesis y la degradación del coágulo quedando

asegurada la fluidez del flujo sanguíneo, este proceso se caracteriza por la activación del plasminógeno convirtiéndose en una proteína activa denominada plasmina, gracias a la acción de los denominados activadores del plasminógeno, las principales fuentes de éstos se hallan en el endotelio de los vasos y la cascada de coagulación. La plasmina actúa hidrolizando la fibrina, el fibrinógeno y los factores V y VIII, el plasminógeno se incorpora al trombo en crecimiento y eventualmente sirve para eliminar el coágulo una vez que éste ha realizado su función.<sup>1</sup>

### **2.3. Inflamación**

Definición. Es el conjunto de respuestas de los tejidos vivos frente a una agresión física, infecciosa o autoinmune, que determina en los sistemas homeostáticos de la sangre y en el tejido conectivo, una serie de cambios encaminados a localizar y aislar el agente agresor para luego eliminarlo y a reparar el daño tisular producido por él. La respuesta inflamatoria está constituida por una compleja red de interacciones entre células, citocinas y componentes de la matriz extracelular.<sup>2</sup>

Coincidiendo con los cambios vasomotores, los leucocitos comienzan su adhesión a la superficie del endotelio vascular mediante receptores de superficie de las células endoteliales (selectinas). A su vez, los receptores de integrinas de la pared de los leucocitos favorecen su unión a la matriz extracelular, desplazándose por diapédesis a través de la pared vascular. Al cabo de unas horas, el espacio de la herida se llena de exudado inflamatorio rico en células (leucocitos, hematíes) y proteínas plasmáticas.

Los leucocitos tienen una misión fundamentalmente fagocítica. La eliminación de los residuos celulares y tejidos lesionados por parte de estas células es esencial y su acción continúa por los monocitos-macrófagos. Estas células desempeñan un gran papel, ya que además de su acción fagocítica, secretan factores de crecimiento que estimulan la migración de los fibroblastos, células epiteliales y endoteliales hacia la zona de la lesión.<sup>2</sup>

Otras células que juegan un importante papel en este período y en los días subsiguientes al proceso cicatrizal son los linfocitos, la administración de agentes que incrementan la función de los linfocitos T, como la hormona de crecimiento, la vitamina A o la arginina, provocan un incremento en el depósito de colágeno y en la resistencia tensil de la herida, por el contrario, otros agentes que disminuyen la función de estas células, como corticoides, ciclosporina A o

el ácido retinoico, dificultan el proceso cicatrizal. La reducción de linfocitos T origina disminución del contenido de hidroxiprolina y de la fuerza tensil de las heridas. <sup>2</sup>

La duración e intensidad de la fase inflamatoria depende de la cantidad de tejido lesionado y en el caso de la herida incisa limpia, como la quirúrgica, este proceso mejora al término de pocos días.

Células que participan en el proceso de inflamación

Varias células del sistema inmune son llamadas, por quimiocinas, al lugar de la agresión. Al pasar de los capilares a los tejidos encuentran un microambiente que es distinto al vascular y responden para poder ubicarse en él y convertirse en residentes, con un cambio en la expresión de moléculas de adherencia y de receptores de quimiocinas CXCL13 y CCL21. Las principales células que participan son:

Polimorfonucleares neutrófilos (PMN). Son las primeras en llegar al lugar de la agresión. Ellas acuden al sitio donde se requieren, por un proceso que se inicia con la producción de mediadores como la interleucina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF), los cuales actúan sobre la zona afectada estimulando en ellos la liberación de quimoquinas como IL-8 que al unirse a los receptores CXCR1 y CXCR2 de los neutrófilos los atrae para que se aproximen a la pared del vaso. Simultáneamente el estímulo al endotelio induce la expresión de las selectinas e integrinas. La producción en los tejidos de histamina, kininas y leucotrienos desencadena una vasodilatación con lo cual se facilita el paso de células, anticuerpos y factores del complemento de los vasos al tejido afectado. <sup>2,3</sup>

El PMN muere después de su secuestro con el agente agresor, liberando factores activadores del complemento y moléculas que son especialmente quimiotácticas para las otras células que participan en el proceso de inflamación.

El PMN destruye antígenos por degranulación dentro del fagosoma, de los gránulos azurófilos, también puede producir degranulación externa, en la cual los gránulos secundarios vierten las enzimas lisosomales, los metabolitos del oxígeno, las colagenasas, lipasas y proteasas al exterior de la células y no al interior de la vacuola fagocitaria, logrando una participación activa del PMN en los procesos inflamatorios pero convirtiéndolo en el principal responsable del daño tisular en los procesos crónicos de las enfermedades autoinmunes.<sup>2,3</sup>

Macrófagos. Entre las 48 y 96 horas después de que se produzca la herida, el tipo predominante de leucocitos en ella es el macrófago; los macrófagos, procedentes de los monocitos extravasados, son esenciales para la cicatrización y cumplen diversas tareas en las fases inflamatorias y proliferativa. Los macrófagos, como los neutrófilos, eliminan detritos de la herida a través de la fagocitosis continuada, la secreción de proteasas y la esterilización bacteriana. Fuente mayoritaria de citocinas y factores de crecimiento, los macrófagos resultan necesarios para el reclutamiento y la activación celulares, la síntesis de la matriz, la angiogenia y la remodelación. A diferencia de los neutrófilos, los macrófagos permanecen dentro de la herida hasta que termina la cicatrización.<sup>3</sup>

Las células endoteliales ante el estímulo de la IL-1, el TNF y la histamina, las células endoteliales inician la producción de PGI<sub>2</sub>, factor activador de plaquetas y óxido nítrico, e incrementan la expresión de las diferentes moléculas de adherencia, selectinas e integrinas requeridas para permitir el paso a los tejidos de polimorfos nucleares (PMN) y otras células.

Las células endoteliales, macrófagos y los fibroblastos producen una de las quimiocinas, la IL-8, cuya función es la de regular la migración de leucocitos a los tejidos. Además generan IL-6.<sup>2,3</sup>

Fibroblastos. Participan en la fase de resolución de la inflamación y en la cicatrización de heridas además colaboran en la producción de la IL-6 que induce en el hígado la generación de proteínas especiales llamadas de la fase aguda de la inflamación.

Su proliferación está controlada por citocinas como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), IL-1, endotelina L y por el factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF) varias de estas citocinas actúan sinérgicamente con las ILs 6 y 4, estimulan en ellos la producción de colágeno en tanto que el interferón  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), la leucorregulina y la relaxina inhiben esta producción. Con los factores que producen inducen el desarrollo del proceso crónico cuando el antígeno no logra ser eliminado en la fase aguda. Sin embargo, cuando el proceso inflamatorio se prolonga, la proliferación exagerada de ellos y el incremento en la producción de colágeno dan lugar a la formación de fibrosis.<sup>2,3</sup>

Plaquetas. Además de ser esenciales en el proceso de coagulación, participan en la inflamación poseen 3 tipos de gránulos secretores: alfa, densos y lisosomales en los primeros se almacena el factor plaquetario 4 (PF4) que es quimiotáctico para PMN, linfocitos y eosinófilos. Los gránulos densos contienen calcio, serotonina, ADP, ATP y los lisosomales enzimas cuya función no está esclarecida aún. El mediador más importante producido por las plaquetas es el factor activador de las plaquetas o PAF que incrementa la adherencia de PMN al endotelio vascular.



## Mediadores primarios de origen celular

Derivados de los PMN. Por degranulación externa inducida por diferentes estímulos físicos, químicos u hormonales liberan elastasa y colagenasa, que degradan la elastina de la matriz tisular y desnaturalización del colágeno. Ambas producen la catepsina G, la lactoferrina y una proteasa neutra que actúa específicamente sobre los factores C3 y C5 del sistema del complemento, generando C3a y C5a.

Mediadores de mastocitos y basófilos. Estas células por degranulación inducida inmunológicamente (mediada por IgE) o por factores físicos como frío o presión o por factores químicos como C3a, C5a, prostaglandinas o leucotrienos, liberan histamina, serotonina y factor quimiotáctico para eosinófilos (Eotaxina) y para neutrófilos (IL-8).<sup>2</sup>

Reparación de los tejidos. Cuando cesa el proceso inflamatorio se inicia la reparación y/o cicatrización de los tejidos. Los macrófagos cumplen el papel inicial de limpieza y remoción de materiales externos y restos celulares.

Los fibroblastos y las células epiteliales y endoteliales, estimuladas por citocinas como factor de crecimiento epidérmico (EGF), y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), inician la cicatrización con neoformaciones de vasos, proceso conocido como angiogénesis.

Fibronectina. Esta glucoproteína sirve como un factor de adherencia de varios microorganismos a los fagocitos, además, cumple una importante función en la resolución del proceso inflamatorio, promoviendo la formación de la matriz tisular para la regeneración y/o cicatrización de los tejidos.<sup>2</sup>

## 2.4. Fase proliferativa

La aparición de los fibroblastos, junto con las células epiteliales, son los acontecimientos celulares más relevantes de esta etapa.

Los fibroblastos derivan de las células mesenquimales locales. Al poco tiempo de su aparición, comienza la síntesis de colágeno y matriz extracelular. A su vez, las células endoteliales próximas a la zona de la lesión experimentan mitosis rápidas, y se movilizan hacia la zona lesionada siguiendo la red de fibrina, comenzando la angiogénesis.<sup>4</sup>

Los factores de crecimiento, que influyen en estas estirpes celulares proceden de plaquetas y macrófagos activados. Algunos de ellos se quedan almacenados en el tramado de fibrina. Concretamente, el factor de crecimiento fibroblástico básico (FGF2), el factor transformante TGF- $\beta$  y TGF- $\alpha$  y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), parecen favorecer la angiogénesis. A medida que los fibroblastos avanzan en el área lesionada, seguidos de los neovasos en proliferación, se produce una fibrinólisis que destruye la red de fibrina.

Mientras se producen estos acontecimientos a nivel del borde más superficial de la herida, la epidermis adyacente comienza a engrosarse a las 24 horas de la lesión. Las células basales experimentan una serie de divisiones mitóticas rápidas, y las células hijas emigran por contacto con bandas de fibrina. Después de formarse puentes a nivel del defecto, las células epiteliales que emigran pierden su aspecto aplanado y adoptan una forma más cilíndrica, aumentando su actividad mitótica.<sup>4</sup>

### 2.4.1. Síntesis de colágeno

El colágeno, la proteína más abundante del organismo, está presente en al menos 20 subtipos. En la reparación de la herida participan fundamentalmente dos subtipos. El colágeno de tipo I predomina en la matriz extracelular de la piel intacta, el colágeno de tipo III, presente en menores cantidades en la piel no dañada, es el más importante para la reparación de la herida. La síntesis de colágeno se inicia horas después del daño, pero no se torna significativa hasta aproximadamente 1 semana más tarde. La activación de los fibroblastos para la síntesis del colágeno deriva de los factores de crecimiento y del entorno metabólico de la herida. La expresión de los genes de colágeno está mediada por los sitios de unión a los promotores para corticoides, TGF- $\beta$  y retinoides, el incremento en las concentraciones de lactato o el entorno hipóxico dentro de la herida también estimulan la transcripción y el procesamiento de los genes de colágeno. El lactato convierte el NAD<sup>+</sup> en dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH), este reduce la disponibilidad de NAD<sup>+</sup> para su conversión de difosfato de adenosina difosfato ribosómica (ADPR) que es un inhibidor de la transcripción del ácido desoxirribonucleico mensajero (ARNm) del colágeno y de otros pasos en el transporte del colágeno. Por eso, el descenso de ADPR aumenta la síntesis del ARNm de colágeno el cual se transcribe dentro del núcleo de fibroblasto. El ARNm transcrito es procesado y traducido por los ribosomas. La cadena polipeptídica resultante posee un patrón repetido de tripletes con una prolina o lisina en segunda posición y una glicina en cada tercera posición, este protocoloégeno tiene un tamaño aproximado de 1.0000 aminoácidos y cuando entra en el retículo endoplásmico se hidroxila y glucosila, el proceso de hidroxilación requiere la presencia de cofactores (oxígeno e hierro), un cosustrato ( $\alpha$ -cetoglutarato) y un donador de electrones (ácido ascórbico), en la cadena hidroxilada y glucosidada de protocoloégeno se altera la formación de los puentes de hidrógeno, lo que da lugar a una

hélice alfa, el procolágeno se transforma en procolágeno que es empaquetado dentro del Aparato de Golgi y exportado a la matriz extracelular. Dentro del espacio extracelular, una peptidasa del procolágeno rompe los extremos de las cadenas y facilita su entrecruzamiento y polimerización posteriores. La formación de enlaces covalentes aumenta la fuerza del monómero resultante de colágeno.<sup>3,5</sup>

Además del colágeno, los fibroblastos producen y secretan glucosaminoglicanos. De forma característica, los glucosaminoglicanos se acoplan a la proteína para convertirse en cadenas de polisacáridos sulfatadas, conocidas como proteoglicanos. Se cree que los proteoglicanos son el componente principal de la sustancia fundamental del tejido de granulación. A medida que la matriz de colágeno va reemplazando el coágulo de fibrina, los proteoglicanos pueden contribuir al ensamblaje de las fibrillas de colágeno.<sup>3</sup>

#### **2.4.2. Depósito de matriz**

Además de mediar en la fibroplasia, el PDGF y el TGF- $\beta$  desempeñan funciones importantes en el depósito de la matriz estos dos factores de crecimiento estimulan la producción de fibroblastos de la matriz provisional. La matriz se compone de monómeros de colágeno derivados de los fibroblastos, proteoglicanos y fibronectina en conjunto, estas sustancias restablecen la continuidad del tejido conjuntivo entre los bordes de la herida. A medida que se crea la matriz, el TGF- $\beta$  también actúa proporcionando una estabilidad estructural a través del descenso en la actividad de la proteasa, el aumento de los inhibidores tisulares de la metaloproteinasas y una mayor producción de proteínas de adhesión celular.<sup>3</sup>

#### **2.4.3. Angiogenia**

El daño vascular causado por la lesión experimenta un restablecimiento a través de la angiogenia, esta empieza el primero o segundo día después de la rotura vascular y se torna

visible hacia el cuarto día, las células endoteliales de las venillas intactas migran desde la periferia hasta el borde de la herida, tras la migración se produce una replicación y formación de nuevos conductos capilares, las integrinas ( $\alpha_v$ ,  $\beta_3$ ) se suprarregulan en la superficie de la célula endotelial, fomentando mayor adhesión. La degradación proteolítica de la matriz circundante de la herida facilita el avance de nuevos vasos a través de la herida. Los episodios de angiogenia están regulados por medio de hormonas de crecimiento ( $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{TGF-}\beta$ , VEGF, FGF, PDGF) provenientes de las plaquetas, los macrófagos y las células endoteliales dañadas.<sup>3</sup>

### Epitelización

De forma análoga a la angiogenia, el restablecimiento del epitelio comienza muy pronto, pero no se ve hasta pasados varios días después del daño. La epitelización restablece la barrera externa y minimiza las pérdidas de líquidos y la invasión bacteriana, comienza por el engrosamiento de la epidermis a lo largo de los bordes de la herida, las células basales de los bordes se elongan, las uniones entre los hemidesmosomas de las células basales y la laminina de las láminas basales se rompen, permitiendo la migración de las células. Los movimientos migratorios se facilitan con la expresión de nuevas integrinas en la superficie celular, la producción intracelular y la contracción de la actomiosina también contribuyen a la progresión anterógrada de las células por la herida, las células epiteliales pueden secretar MMP, que descompone la fibrina en el curso de su migración el movimiento de las células basales es paralelo al sentido en que se orientan las fibras de colágeno dentro de la herida, un proceso que se ha denominado guía por contacto. Las células epiteliales continúan migrando y proliferando hasta que entablan contacto con las células epiteliales que vienen desde otras direcciones. la inhibición del contacto transmite a las células epiteliales una señal

para que cese su esfuerzo migratorio. Sobre el lugar de la lesión se crea una nueva monocapa de epitelio. Las células de esta capa se diferencian adoptando un aspecto menos elongado y más cuboidal que las células basales. Los hemidesmosomas se vuelven a unir a la membrana basal, reinsertando estas células de tipo basal, la proliferación celular posterior restablece la epidermis multiestratificada. Los episodios de epitelización dependen de señales intercelulares, factores de crecimiento y el entorno metabólico del interior de la herida. Una tensión de oxígeno baja en la herida aumenta la producción de TGF- $\beta$ . El TGF- $\beta$  contribuye a que las células epiteliales no se diferencien y continúen con la migración de mitogenia. El TGF- $\alpha$  y el factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF) estimulan de forma más directa la replicación celular a la inversa, la humedad y el incremento en la tensión del signo respaldan la diferenciación de las células epiteliales para que culminen los últimos pasos de la epitelización.<sup>3</sup>

## 2.5. Fase de remodelación o de contracción

La contracción de la herida es el mecanismo final para la reparación de una zona lesionada la cual tira de los bordes de la herida para juntarlos, encogiendo la herida. La contracción satisfactoria deja una pequeña zona que será reparada con la formación de la cicatriz esta última etapa, comienza al mismo tiempo que la fibroplasia y continúa por meses la célula principal es el fibroblasto que produce fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno durante la fase de reparación los cuales sirven como base para la migración celular y soporte tisular, con el tiempo la fibronectina y el ácido hialurónico desaparecen por acción de las proteasas e hialuronidasas.<sup>3</sup>

Maduración del colágeno.

El último acontecimiento en la cicatrización de la herida, y el más largo, es la maduración del colágeno, que empieza una semana después de la lesión y continúa entre 12 y 18 meses durante este período, la matriz del colágeno sigue reabsorbiéndose y depositándose, remodelando y fortaleciendo la herida, la matriz inicial del colágeno difiere con su contenido y organización de la del tejido conjuntivo no dañado. El tejido intacto se compone de un 80 a un 90% de colágeno tipo I y en un 10 a un 20% de colágeno tipo III en cambio, la matriz de colágena de la herida inicial consta en un 30% de colágeno tipo I; la mayor proporción del colágeno es de tipo III hace que la matriz sea más débil, además las fibrillas siguen una disposición paralela y no se entrelazan, Al cabo de una semana, la fuerza de la matriz corresponde a un 3% de la del tejido dañado; las colagenasas y las proteasas inciden y descomponen estas primeras fibrillas de colágeno, este proceso se contrarresta con el depósito continuado de colágeno, el nuevo colágeno depositado aumenta de espesor, fuerza y organización; la lisiloxidasa fomenta el entrecruzamiento entre fibrillas; con el tiempo, la

relación entre el colágeno de tipo I y de tipo III se aproxima a la del tejido conjuntivo intacto. A las tres semanas la fuerza del tejido aumenta hasta un 30%, y a los 3 meses alcanza un máximo del 80% de la fuerza original.<sup>3,5</sup>

Al final del proceso la actividad celular disminuye y el tejido cicatrizal se torna rico en colágeno, pobre en células y vasos. La dermis recupera la composición previa a la lesión y alcanza una resistencia máxima del 70% comparada con el tejido previo y la reparación de la herida se considera finalizada.<sup>1</sup>



### 3. Factores que afectan el proceso de cicatrización

Las complicaciones de las heridas aumentan con la edad ya que el período de cicatrización de una herida cutánea se ha comprobado que aumenta en forma exponencial, así un recién nacido demora cinco días y un mayor de sesenta años, treinta días. A esta conclusión bastante simple hay que agregar diferentes consideraciones sobre aspectos médicos, nutricionales e infecciosos que actúan sobre el proceso de cicatrización.

- a) Oxigenación: los fibroblastos son sensibles al O<sub>2</sub>, necesitan una presión parcial de oxígeno (Po<sub>2</sub>) de 30 mmHg y pueden ser estimulados para proliferar y sintetizar colágeno si la Po<sub>2</sub> es mayor a 40 mmHg, la hipoxia de la herida, secundaria a una anemia grave o a una vascularización inadecuada (isquemia), es la causa más frecuente de infección de la herida. Recordemos que el oxígeno es un elemento esencial en la síntesis de colágeno, en la proliferación celular y en la función bactericida de los neutrófilos que son factores muy importantes en la cicatrización.<sup>6</sup>
- b) Infección de la herida: la complicación más frecuente y seria de cortes y heridas es la infección. En condiciones normales el estrato córneo de la epidermis actúa como barrera eficaz contra la penetración de bacterias en las capas más profundas de la piel y fascia superficial toda rotura de la epidermis crea una vía para la invasión bacteriana, no sólo pueden entrar bacterias procedentes del exterior, sino también bacterias que forman la microflora cutánea normal; un factor fundamental que determina la contaminación bacteriana y la presencia de infección de la herida es el tiempo transcurrido desde la lesión hasta la limpieza y reparación.<sup>6,7</sup>
- c) Medicamentos: Entre los fármacos con efectos negativos están los corticoides, antiinflamatorios no esteroideos (ácido acetilsalicílico, fenilbutazona), penicilamina,

colchicina, anticoagulantes y antineoplásicos. Entre estos fármacos, los corticoides son los que ejercen un efecto más pronunciado en la cicatrización ya que alteran de manera adversa la respuesta inflamatoria, actividad de los fibroblastos, neovascularización y epitelización, los antiinflamatorios no esteroideos deprimen la respuesta inflamatoria normal y pueden reducir la resistencia a la tracción global de la herida, los anticoagulantes y el ácido acetilsalicílico aumentan la probabilidad de formación de hematoma en la herida, con el consiguiente retraso de la cicatrización.<sup>6,7</sup>

- d) Nutrición: muchos individuos son susceptibles de malnutrición por diferentes causas: aspectos psicológicos, sociales, depresión, anorexia, confusión, pueden llevar a pérdida de peso y a una desnutrición calórico-proteica. La síntesis proteica carece con la edad y ello tiene efecto sobre la proliferación de los fibroblastos, a la síntesis de materia colágena y la función de los neutrófilos. Otros elementos nutricionales tienen importancia en la función de la glucosa, minerales entre los cuales destaca el zinc por su papel en la proliferación celular y el sistema inmune; también tienen importancia las vitaminas A (incrementa la resistencia a la herida) y C (es un cofactor esencial para la síntesis de colágeno). La corrección de la nutrición deficiente mejorará substancialmente la capacidad regenerativa y de defensa contra la infección consiguiendo una cicatrización adecuada de las heridas.<sup>6</sup>

#### 4. Tipos de cicatrices

En condiciones ideales, una vez finalizado el proceso de curación, la elevación de la cicatriz no debe divergir de la de la piel circundante.

Contracturas o cicatrices normotróficas. Se producen cuando la cicatriz no ha madurado completamente y curan en general con contracción de tejido, aparecen tras heridas de gran tamaño, y secundarias a quemaduras en las articulaciones o pliegues de la piel suelen ser incapacitantes y disfuncionales.

Cicatrices atróficas. Se generan tras la destrucción del colágeno dérmico, aparecen cuando se produce una formación insuficiente de nuevo tejido conectivo, por una desorganización del proceso de curación; se caracteriza por ser cicatrices planas y deprimidas por lo general son pequeñas, a menudo redondas, y suelen surgir tras un proceso inflamatorio como puede ser el acné o la varicela.<sup>8,9</sup>

Cicatrices hipertróficas. Se definen como crecimientos exagerados del tejido cicatrizal en una zona de donde se ha producido una lesión cutánea, sin extenderse más allá de los límites de la cicatriz original, aparecen cuando la herida es sometida a grandes fuerzas de tracción durante la curación, presentan haces de colágeno engrosados, pero con disposición paralela a la superficie epitelial sin formar nódulos, son usualmente rojas, gruesas y elevadas, pueden causar picor y normalmente suelen desarrollarse semanas después del daño.<sup>9</sup>

Cicatrices queloides. Se define como cicatrización patológica caracterizada por depósito anormal de colágena, que únicamente ocurre en humanos tienen la capacidad de crecer más allá de los límites de la herida original y no tienden a resolverse de manera espontánea. Los haces de colágeno se observan como depósitos gruesos, hialinizados, eosinófilicos,

dispuestos dentro de la dermis con tendencia a formar nódulos, rodeados por numerosos vasos sanguíneos con proliferación endotelial, son gruesos, ovalados y con los bordes de tejido cicatrizal irregular se acompaña a menudo de prurito o ardor intenso y sensibilidad especial al contacto; la incidencia de formación de cicatrices queloides varía con un rango de 4.5 al 16%, y es más frecuente en la población afroamericana, se asocia a hiperactividad de la pituitaria, como sucede en la adolescencia y el embarazo. Las regiones anatómicas que con más frecuencia se ven afectadas son la pre-esternal y deltoidea.<sup>9</sup>

Para las cicatrices queloides e hipertróficas el mecanismo por medio del cual se ve aumentada la cantidad de colágeno no es por un aumento en el volumen total de los fibroblastos, sino por un aumento en su producción de proteínas de matriz (colágeno), lo cual se ha documentado mediante estudios experimentales que muestran un incremento en el RNAm encargado en parte de la producción de dichas sustancias. Así mismo, se ha podido documentar el hecho de que la degradación en estas proteínas de matriz está disminuida también el RNAm encargado de parte de la síntesis de colagenasas está disminuido en estos tejidos, lo que se manifiesta con una disminución en la síntesis de colagenasas esto se va a traducir en que el colágeno viejo y aumentado quede reparado de manera aleatoria, sin una degradación ni organización adecuada (remodelación).

Cicatriz ulcerada o úlcera cicatricial se caracteriza por la presencia de una ulceración en su centro debida a fenómenos isquémicos producidos por el estrangulamiento de los vasos por la fibrosis cicatricial profunda y periférica, el epitelio superficial no consigue cubrir la herida, o es frágil y se ulcera ante agresiones mínimas, puede aparecer en heridas profundas y de gran tamaño que curan por segunda intención, en su evolución tórpida puede inducir fenómenos degenerativos, pareciendo un carcinoma epidermoide.

## 5. Plantas medicinales y reactivo biológico

### 5.1. Plantas medicinales

La OMS define a las plantas medicinales como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos, estima que el 80% por ciento de las personas en regiones menos desarrolladas emplean la medicina tradicional con plantas para el cuidado de la salud. Este conocimiento popular está basado en la eficacia, es decir, se acepta o adopta lo que se ve que sirve, lo demás cae en desuso.<sup>10</sup>

Casi siempre en la planta se encuentran varios principios activos, de los cuales uno de ellos determinará la importancia de la especie para alguna aplicación. Estos principios activos, no se distribuyen en forma homogénea por todo el cuerpo de la planta, sino preferentemente en las flores, las hojas o las raíces y a veces en las semillas, los frutos o en la corteza.

Los productos naturales con propiedades terapéuticas han sido muy utilizados en la medicina, muchos tienen como soporte su uso tradicional, sin que existan datos que científicamente demuestren su utilidad.

Las plantas tienen numerosos compuestos orgánicos denominados metabolitos primarios, entre los que se encuentran en primer término, los azúcares o carbohidratos, que se producen como resultado de la fotosíntesis. A partir de ellos, fabrican otros como: lípidos o grasas y las proteínas, etc.<sup>6</sup>

Por otra parte, sintetizan en muy pequeñas cantidades raramente más del 1% diferentes compuestos químicos denominados en general como metabolitos secundarios, dado que no intervienen directamente en su metabolismo, o al menos su utilidad en la vida del vegetal.

Ellos pertenecen directamente a diferentes grupos como son: aceites esenciales, alcaloides, cumarinas, esteroides, fenoles, flavonoides (flavonas, flavonoles, flavanonas, chalconas, e isoflavonoides), glucósidos, gomas, iridoides, lignanos, mucílagos, pectinas, quinonas (antraciclínonas, antraquinonas, benzoquinonas saponinas, taninos, terpenos), estas sustancias tienen diferente actividad o propiedades biológicas, razón por la cual muchas de ellas son empleadas en la medicina, tanto tradicional como en la científica, en forma directa, como fitofármacos.<sup>10,11</sup>

## **5.2. *Ipomoea murucoides***

*Ipomoea murucoides* es una planta medicinal originaria de México. *Ipomoea* es el género mejor representado de la familia Convolvulaceae, con cerca de 500 especies de distribución de las cuales 150 se encuentran en México.<sup>12,13</sup>

Los miembros del género *Ipomoea* comparten dos propiedades terapéuticas: las flores son utilizadas como antiséptico, se frota directamente sobre las afecciones de la piel, se utilizan en picazón y erupciones cutáneas; y como decocciones en emplastos y cataplasmas, y en algunos casos, las hojas, tallo y corteza se utilizan para el reumatismo, inflamación y el dolor muscular.<sup>12,13</sup>

Origen: A *Ipomoea murucoides* también se le conoce como cazahuate en México, Oaxaca, Morelos, Querétaro, cazahuate en Guerrero y 15 formas más de nombrarlo en las distintas lenguas y dialectos mexicanos. Se ha encontrado en Villa G.A. Madero, Xochimilco y Milpa Alta, se caracteriza por crecer en matorral xerófilo su distribución fuera del Valle de México va de Jalisco, Guanajuato y Querétaro a Guatemala.<sup>12,13</sup>

Descripción: es un árbol de 3 a 6 m de altura, de madera blanda con presencia de látex, fuste recto y copa muy poco definida. Tiene tronco gris, flores blancas, fruto capsular con el cáliz abajo.<sup>8</sup>



Figura 4.2.1. *Ipomoea murucoides*. Fotografías tomadas en la FES-Z en el Distrito Federal.

Compuestos químicos de *Ipomoea murucoides*<sup>14</sup>

1. Metabolitos: galactosa-manosa, resinas glicosiladas.
2. Alcaloides
3. Taninos, saponinas, flavonoides.

Parte utilizada: hojas, tallo, corteza y flores

Los usos medicinales de esta planta son principalmente problemas de la piel, como caída del cabello en el Estado de México y Morelos, el salpullido en Michoacán así como para sacar clavillos, tratar la disípela y como cicatrizante en Oaxaca, el tratamiento consiste en administrar de forma externa el cocimiento de la flor, hoja tallo y corteza, de igual manera es utilizada para el dolor e inflamación por golpes y reumas; sólo se administra vía oral en caso de picaduras de alacrán.<sup>12,13</sup>

Toxicidad: cuando el ganado vacuno se la come, le provoca por fenómenos de adicción, una desnutrición. <sup>13</sup>

También se aplican sus propiedades medicinales en el dolor de muelas, para la tos, en la hidropesía y para el oído reventado. Además, en procesos inflamatorios de vientre, ovarios y pies, así como para controlar los nervios y como diurético.

### **5.3. Madecassol**

El nombre comercial del producto que contiene centella asiática y que es recomendado para la cicatrización de heridas es MADECASSOL, el cual está indicado como regenerador tisular y estimulante de la cicatrización en úlceras de las cuales se haya aclarado su origen, escaras, fístulas, episitomías, quemaduras, lesiones traumáticas o quirúrgicas, injertos, radioepitelitis, cicatrices retráctiles y como tratamiento profiláctico para las cicatrices queloides, en distintas especialidades médicas. <sup>15</sup>

Nombre científico: *Hydrocotyle asiática L.*

Nombre común: Centella asiática.

Descripción: planta pequeña, herbácea, vivaz y rastrera. Raicillas y hojas que brotan de unos nudos y aparecen dispuestas de forma diferente a otras umbelíferas. Las hojas presentan borde crenado, son enteras, pecioladas, reniformes, circulares o cordadas, algunas veces más largas que anchas, orbiculares, y con siete nerviaciones, las flores son comestibles, de color blanco, rosado o rojizo, son sensibles y se agrupan en una umbela simple que contiene de 1 a 5 flores pequeñas, con brácteas en su base, el fruto es un diaquenio de unos 3 mm de diámetro. Tiene poco sabor y olor.<sup>9</sup>



Origen: Originaria de las zonas húmedas y encharcadas de Madagascar y la India. Se encuentra en el sur de África, América, Australia y Asia.

Compuestos químicos:

- 1) Saponinas: asiaticósido, su principal principio activo, madecasódico, brahmósido, trankunísico, centellósido.
- 2) Agliconas de tipo triterpenoideo: como el ácido asiático, ácido centellínico, ácido bráhmico y ácido betúlico.
- 3) Alcaloides
- 4) Principios amargos: Vellarina.
- 5) Aceite esencial
- 6) Flavonoides, taninos y azúcares.

Parte utilizada: Hojas y flores.

Acción farmacológica: antiinflamatorio, antineoplásico, efectos sobre el sistema nervioso central, antibacteriano, antiprurítico, ulceroprotector, mejora el tono vascular/venoso, regenerador cutáneo en cicatrices, queloides, heridas, fistulas, estrías y eccemas. Útil en el tratamiento de úlceras corneales y queratitis.<sup>9,10</sup>

## 5.4. Ratón de laboratorio

Animal de laboratorio

Se define al animal de laboratorio como reactivo biológico cuya pureza debe ser vigilada, controlada y contrastada al igual que cualquier otro reactivo sin olvidar su posible contaminación biótica.

También es definido como cualquier especie animal que, mantenido bajo condiciones controladas es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para la generación de datos, los cuales son utilizados como información

Ratón (*Mus musculus*)

Taxonomía

Clase: Mammalia

Familia: Muridae

Género: *Mus*

Especie: *Mus musculus*

El ratón es el animal más pequeño usado comúnmente en investigación, como la mayoría de los mamíferos pequeños, el ratón tiene una tasa de latidos cardíacos muy elevada (300 + / min), al igual que la tasa respiratoria (100/ min.). El ratón tiene varias características en el esqueleto que lo distinguen de la mayoría de las otras especies, por ejemplo; el cartílago costo-condrial, localizado entre las costillas y el esternón, es a menudo calcificado. La mayor parte de la médula ósea de los huesos largos del ratón permanece funcional a través de toda

la vida del animal, cuando en la mayoría de los mamíferos la mayor parte de la médula ósea es remplazada por grasa, el ratón tiene cinco pares de glándulas mamarias; tres torácicas y dos abdominales, el tejido de la glándula mamaria se extiende sobre la espalda y hombros; por esta razón, los tumores mamarios son encontrados a menudo afuera de esta región, el estómago tiene dos partes, una porción glandular y otra no glandular con una pared muy delgada siendo está recubierta, al igual que el esófago, por epitelio escamoso estratificado. El páncreas consiste en una organización de lóbulos dispersos en el mesenterio lo que hace difícil la identificación de este órgano.<sup>11</sup>

Tiene un período de gestación corto, una alta tasa de fertilidad, y amplias camadas, por lo que es barato producir grandes cantidades para la investigación, a la vez que son muy útiles para estudiar el potencial reproductivo y la toxicidad en desarrollo. Por su corta vida media son útiles en los estudios crónicos.

Ventajas de su uso como animal de laboratorio:

- a. Fácil cuidado y mantenimiento, por su pequeño tamaño.
- b. Bajo costo de manutención.
- c. Cepa definida.
- d. Diversidad de características específicas que sirven como modelo.
- e. Eficiencia reproductiva.
- f. Por su vida relativamente corta es excelente para su uso en ensayos crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología, etc.
- g. Corto tiempo de generación.

Desventajas de su uso como animal de laboratorio:

1. Dificultad en la recolección de material biológico.
2. Dificultad de la administración de drogas.
3. Dificultad en las técnicas quirúrgicas

## 6. Planteamiento del problema

Una herida sufrirá una serie de eventos bioquímicos complejos para reparar el tejido dañado, el retraso de estos eventos producirá una herida crónica lo que significa que la herida tarde en sanar, que la herida cicatrice de forma antiestética, o un gasto exagerado en el tratamiento.

En el mercado existen diferentes tratamientos farmacéuticos para las heridas en piel, sin embargo las plantas medicinales se han utilizado desde la prehistoria, ya que el hombre no sólo recurría a las plantas en busca de su alimento sino también de su salud.

*Ipomoea murucoides*, es una planta que se utiliza como cicatrizante en diferentes lugares de México, pero no existen trabajos experimentales reportados por lo que es de nuestro interés demostrar si en verdad tiene actividad cicatrizante.

## 7. Objetivo general

Evaluar el efecto cicatrizante de *Ipomoea murucoides* y la toxicidad en el organismo.

Objetivos específicos:

1. Analizar cortes histológicos del área de cicatriz de los tres grupos: vaselina, extracto y Madecassol para determinar el efecto cicatrizante de la planta.
2. Evaluar la toxicidad del extracto, usando un modelo de intoxicación subaguda en ratón, evaluando el tamaño de los órganos como el corazón, bazo, hígado y riñones. Si alguno de estos presenta alguna alteración se analizarán los sueros.
3. Cuantificar ceruloplasmina sérica como marcador de inflamación comparando los tres grupos: vaselina, extracto y Madecassol.
4. Cuantificar nitritos séricos.

## 8. Hipótesis

*Ipomoea murucoides* ha sido reportada como un cicatrizante utilizado en diversos estados de la República; por lo que al realizar una escisión en la piel de los ratones CD1 suponemos que la administración del extracto mejorará notablemente la herida, y disminuirá el proceso inflamatorio debido a sus propiedades cicatrizantes y antiinflamatorias en la piel.

## 9. Diseño experimental

### 9.1. Tipo de estudio

Estudio experimental, longitudinal y comparativo

### 9.2. Población de estudio

Para este proyecto se utilizaron 18 ratones CD1 machos en buen estado de salud.

### 9.3. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Criterios de inclusión: ratones machos, sin ningún padecimiento.

Criterios de exclusión: ratones hembras o con alguna enfermedad, sobrepeso o desnutrición.

Criterios de eliminación: ratón que presente infección.

### 9.4. Variables

Independiente: Tratamiento

- 1) Vaselina
- 2) Crema al 2% del extracto acuoso de *Ipomoea murucoides*
- 3) Madecassol al 2%

Dependiente: Heridas

Diámetro de las heridas después de 11 días de la aplicación tópica de cada tratamiento.

### 9.5. Material y métodos

#### 9.5.1. Material y reactivos

Material biológico: Ratones machos CD1, mantenidos bajo condiciones adecuadas.



Material	Equipos	Instrumentos	Reactivos
Vasos de precipitados KIMAX, PYREX de 50, 100 y 250 mL	Estufa SHELLAB	Termómetro de -10 a 120 °C	Vaselina Vaseline
Pipetas KIMAC, FALCON 1, 5 Y 10 mL	Campana de extracción	Espectrofotómetro JENWAY 6305 UV/VIS Spectrophotometer	Extracto de <i>Ipomoea murucoides</i>
Matraz Erlenmeyer PYREX 2L	Baño metabólico PRECISION CIRCULATINE SYSTEM-253		Madecassol Laboratorios Sanofi
Matraz Kitazato KIMAX 1L	Incubadora ASHELLAB		Antisuero de conejo (obtenido en el laboratorio)
Matraz volumétrico KIMA100, 250 mL	Rotavapor Yamato Rotary Evaporator RE 300		Agarosa (Beskton y Dickinson) 1%
Espatula	Vortex Scientific Industries		PBS
Cajas Petri KIMAX	Sonicador S&M		Formalina

	0603 Ultrasonic Processor Sonics Vibracell		(HYCEL)
Tubos de ensayo PYREX	Refrigerador Whirpool		Cadmio
Probetas KIMAX de 100 Y 500 mL	Centrifuga Hamilton Bell VanGuard V6500 BIOHAZARD		Sulfanillamida (Merk)
			Sulfato de zinc (HYCEL DE MÉXICO S.A de C.V)
			N (1-naftil)- etilendiamino (Merck)
			Ácido acético glacial (Merck)
			NH <sub>4</sub> Cl (Merck)

## 9.5.2. Métodos

### 9.5.2.1. Preparación el extracto acuoso de *Ipomoea murucoides*

Cabe destacar que no existen referencias en cuanto a que parte de la planta es la que genera el efecto, por lo que se decidió utilizar un 25% de cada parte.

Se recolectaron 200 gramos de *Ipomoea murucoides*: 50 g de corteza, 50 g de flor, 50 g de tallo y 50 g de hojas. Fueron triturados en una licuadora con un litro de agua destilada de vacío en un matraz Erlenmeyer y se refrigeró por 12 horas. Doce horas después se filtró a través de gasas, y posterior a esto sobre papel filtro poro mediano en un matraz Kitazato y un embudo Bushner.

Lo filtrado se colocó en un Rotavapor y se llevó a una destilación a 45° C., cuando la mayor cantidad de agua se había destilado se retiró el matraz y con una espátula se extrajo todo lo que quedo en el matraz fue colocado en una caja Petri y se dejó secar por completo a 36° C. Una vez seco se pulverizó en un mortero. Todo lo obtenido se pesó en una balanza analítica para obtener el rendimiento, el cual fue de 4.5% ya que el peso que se obtuvo 9.5 g.

### Preparación de la pomada de *Ipomoea murucoides*

En un vaso de precipitados se colocaron 29.4 g de vaselina y se introdujo en un horno hasta fundir, una vez fundida se mantuvo la temperatura en un baño María, 0.6 g del extracto de *Ipomoea murucoides* se depositaron en un vaso de precipitados de 10 mL y fueron disueltos en 3 mL de agua, fue necesario sonicar por 5 minutos. El extracto fue agregado a la vaselina y mezclado con varilla hasta llegar a temperatura ambiente.

### 9.5.2.2. Realización del experimento

Se hicieron tres grupos con seis ratones cada uno. El primer grupo fue de vaselina (control negativo), el segundo del extracto y el tercer grupo de Madecassol (control positivo). El ratón fue introducido en una cámara de éter para poder anestesiarlo, al sacarlo de ella, fue colocado sobre una tabla estirándole la piel de la espalda media, y con un sacabocados (previamente se esterilizo con vapor seco) se realizó una escisión de aproximadamente 1cm, el sacabocado se pasaba por etanol y se flameaba antes de cada uso. Cuando los 18 ratones tenían ya la escisión a cada uno se les puso una capa superficial del tratamiento respectivo. Fue medido el diámetro de las heridas, el tratamiento fue aplicado diariamente por 10 días, en el día 11 fueron sacrificados se obtuvo sangre para poder obtener suero para pruebas posteriores. Se retiraron las costras superficiales y fueron medidas las heridas el diámetro fue comparado con el obtenido al inicio del ensayo. Se tomó una muestra de tejido cicatrizal de cada uno de los ratones para realizar los cortes histológicos.



Figura 9.5.2.2.1. Escisión realizada en ratón CD 1

### **9.5.3. Cuantificaciones séricas**

#### 9.5.3.1. Cuantificación de ceruloplasmina

El procedimiento consiste en una inmunoprecipitación en agarosa entre la ceruloplasmina (antígeno del ratón) y su anticuerpo homólogo (anticeruloplasmina obtenida en conejo) que se encuentra presente en el gel de agarosa.

El antígeno difunde radialmente en la mezcla gel-anticuerpo y se forma un disco o anillo visible en un punto que depende del punto de equivalencia antígeno-anticuerpo. La concentración de antígeno se relaciona directamente con la medida del diámetro del anillo de precipitación, el valor obtenido se interpola en una curva estándar.

En un vaso de precipitados de 50 mL se depositaron 0.20 g de agarosa y se añadieron 20 mL de PBS, para obtener así una solución al 1%, se fundió en un horno. En un baño metabólico fueron colocados 5 tubos de ensayo, cuando el baño alcanzo 45° C, a cada tubo se les añadió 2 mL de la agarosa al 1%, se dejaron aproximadamente 2 minutos para que la temperatura se estabilizara, fue sacado uno por unos los tubos y se les añadió 150 µL de anticeruloplasmina de ratón agitándose en un Vortex, después se vaciaron con mucho cuidado y rápidamente en placas procurando no hacer burbujas las placas se dejaron enfriar para que solidificaran.

Ya solidificadas se realizaron 4 perforaciones en cada pozo de la placa con un perforador. En cada perforación fueron colocados 5 µL del suero problema una vez colocadas todas las muestras se dejó a temperatura ambiente por 30 minutos y se refrigeró por 48 horas.

Transcurrido este tiempo se midieron los diámetros de los halos, que se formaron alrededor de las perforaciones, la concentración es directamente proporcional al diámetro de los halos, los valores obtenidos fueron interpolados a una curva estándar.

### 9.5.3.2. Cuantificación de nitritos (modificada)

Se colocaron en tubos de 13x100 limpios, 0.500 g de cadmio metálico en la campana de extracción. El cadmio fue plateado con una solución acuosa de  $\text{CuSO}_4$  al 15% (2 mL), se agito hasta que el cadmio se plateo aproximadamente 10 minutos en un agitador (Rocker), fue lavado exhaustivamente con agua para eliminar el cobre, 3 lavados con el tubo lleno y después con HCl 0.1N para remover todo el  $\text{Cd}(\text{OH})_2$ , aproximadamente 2 volúmenes con el tubo lleno. Después se lavó el cadmio con  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (solución acuosa al 5% ajustando el pH 9 con borato de sodio).

Sulfato de zinc para desproteinizar: se preparó con una solución de  $\text{ZnSO}_4$  pesando 300 g/L o 30 mg/dL.

#### Preparación de reactivos

Solución acuosa de ácido acético al 15% v/v.

Reactivo de sulfanilamida: Disolver 0.5 g de sulfanilamida en 150 mL de ácido acético al 15%. Etiquetar y protegerlo de la luz.

Reactivo de NED: Disolver 0.2 g de N-(1-naftil)-etilendiaminodihlorhidrato en 150 mL de ácido acético al 15%. Etiquetar y guardarlo en un frasco protegido de la luz.

#### Protocolo

A 100 mL de plasma se le adicionaron 300  $\mu\text{L}$  de agua destilada (dilución 1:4), se le adicionaron 20  $\mu\text{L}$  de la solución de  $\text{ZnSO}_4$ , se mezcla bien y el precipitado se separa por centrifugación 10000 rpm por 5 minutos.

Tomar un tubo con el cadmio activado y tirarle el  $\text{NH}_4\text{Cl}$  bien seco, se adiciono al tubo todo el sobrenadante de la muestra y se agitaron tapados con papel parafilm en un agitador (Rocker) durante 15 minutos. Se centrifugaron los tubos a 3500 rpm por 5 minutos y se toman 200  $\mu\text{L}$  del sobrenadante para el ensayo.

Curva de Calibración

<b>TUBO</b>	<b>ESTÁNDAR</b>	<b>H<sub>2</sub>O destilada</b>
<b>1</b>	0	900
<b>2</b>	100	800
<b>3</b>	200	700
<b>4</b>	300	600
<b>5</b>	400	500
<b>6</b>	500	400
<b>Muestra</b>	200	700

Adicionar 50  $\mu\text{L}$  de sulfanilamida. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Adicionar 50  $\mu\text{L}$  del reactivo de NED, mezclar e incubar 30 minutos leer a 540 nm. Los valores obtenidos se extrapolaron a una curva de calibración.

#### **9.5.4. Ensayo de toxicidad**

Para la evaluación toxicológica de un medicamento a base de una planta, y cuyo uso incluye su consumo reiterado, es importante la determinación de la toxicidad oral tras la administración de dosis repetidas. El objetivo del ensayo fue determinar los signos de

toxicidad manifiestos tras la administración oral durante 10 días de extracto de *Ipomoea murucoides*, determinar si existen variaciones en el comportamiento tras la administración, el peso corporal y realizar un estudio de los órganos una vez que terminó el ensayo.

Se trabajó con 24 ratones machos, haciendo 4 grupos de 6 ratones cada uno. Cada grupo fue etiquetado de la siguiente forma: 1) control negativo (solución salina), 2) extracto 25 mg/Kg, 3) extracto 50 mg/Kg, 4) extracto 100 mg/Kg.

Para la elaboración de las soluciones con las diferentes concentraciones se pesó 100 mg del extracto de la planta disueltos en 10 mL de solución salina, de esta solución se tomaron 5 mL y se aforó a 10 mL con solución salina, de esta última se tomaron 5 mL y nuevamente se llevó a 10 mL con solución salina. Estas soluciones se conservaron en refrigeración, se preparaban cada 3 días. Al testigo negativo se le administro solución salina.

Cada uno de los ratones fue pesado y de acuerdo a sus pesos se ajustaron las dosis, la administración se hizo con sonda gástrica, sujetando del dorso los ratones e introduciendo la sonda vía oral. La administración se realizó por 10 días ajustando la dosis, cada tercer día de acuerdo a los pesos de los ratones.

Al día 11 los ratones fueron sacrificados, obteniendo aproximadamente 1 mL de sangre y se extrajeron y pesaron los siguientes órganos: hígado, bazo, riñones y corazón, el peso se dividió entre el peso del ratón y multiplicado por 100, una vez obtenidos todo los índices se compararon los tres grupos. Los sueros fueron almacenados, y una vez obtenidos los resultados de la comparación de los índices se mandaron a analizar



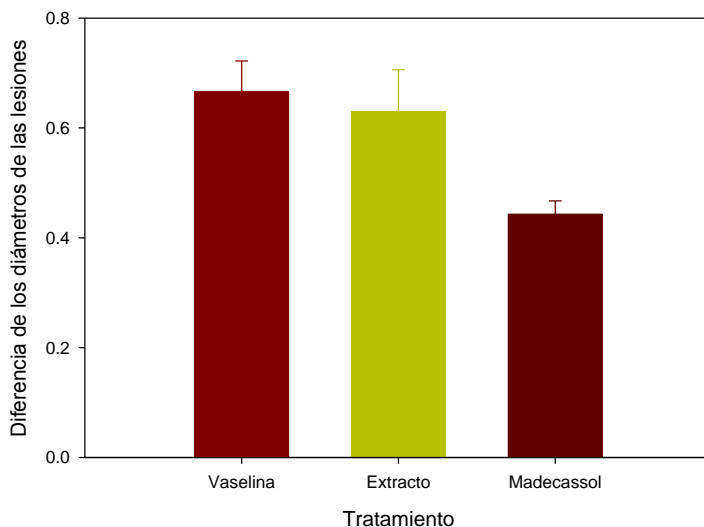
## 10. Resultados

Con la finalidad de evaluar el efecto cicatrizante del extracto acuoso de *Ipomoea murucoides* se midieron los diámetros de las heridas que se les realizaron a los ratones después de 10 días de tratamiento con el extracto, vaselina y Madecassol. Los resultados obtenidos muestran que las heridas tratadas con el extracto acuoso de *Ipomoea murucoides* no disminuyeron en comparación con el control positivo (Madecassol), por lo que el extracto no es más eficiente bajo estas condiciones que el control positivo (cuadro X.I y gráfica 1).

**Cuadro X.I.** Comparación de los diámetros en mm de las heridas por grupo de tratamiento

Parámetro	Vaselina (-) n=6	Madecassol (+) n=6	extracto acuoso de <i>Ipomoea murucoides</i> n=6
<b>Diámetro final de las heridas en mm</b>	0.67+/-0.14	0.56+/-0.19	0.63+/-0.23

Prueba ANOVA de un factor, con comparaciones múltiples por la prueba de Tukey 95% de confianza. Los valores corresponden a la media +/- la desviación estándar. La diferencia de medias significativa para Madecassol vs vaselina



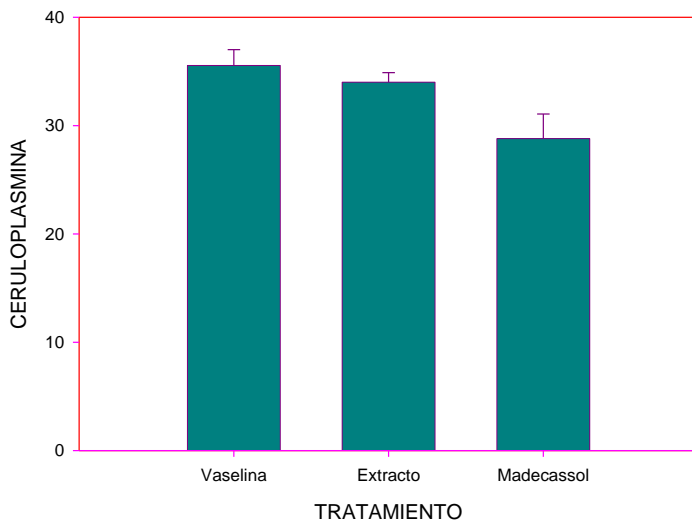
**Gráfica 1.** Diámetro de lesiones de los ratones CD1 en mm. Los valores son la media  $\pm$  el error estándar.  $P= 0.890$  vaselina vs extracto;  $P= 0.033$  vaselina vs Madecassol;  $P= 0.079$  extracto vs Madecassol

La cuantificación de ceruloplasmina sérica se realizó con el suero que se le extrajo a los ratones después de 10 días de tratamiento en las heridas con *Ipomoea murucoides*, vaselina y Madecassol, realizado a través de una inmunoprecipitación en agarosa al 1%, los resultados muestran que el extracto no disminuyó la concentración de esta proteína en comparación con el control positivo, observando un comportamiento similar al control negativo (cuadro X.II y gráfica 2).

**Cuadro X.II.** Comparación de ceruloplasmina por grupo.

Parámetro	Vaselina (-) n=6	Madecassol (+) n=6	Extracto acuoso de <i>Ipomoea murucoides</i> n=6
<b>Concentración de ceruloplasmina</b>	39.55±/5.58	28.80±/13.84	38.60±/3.59

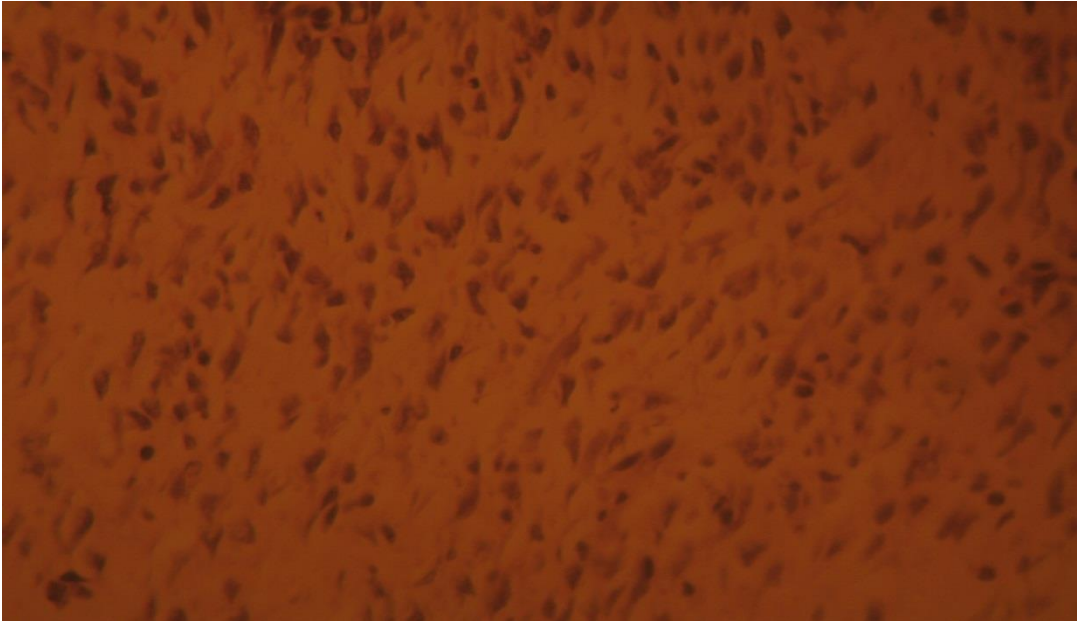
Prueba ANOVA de un factor, con comparaciones múltiples por la prueba de Tukey 95% de confianza. Los valores corresponden a la media +/- la desviación estándar. La diferencia de medias significativa para Madecassol vs vaselina.



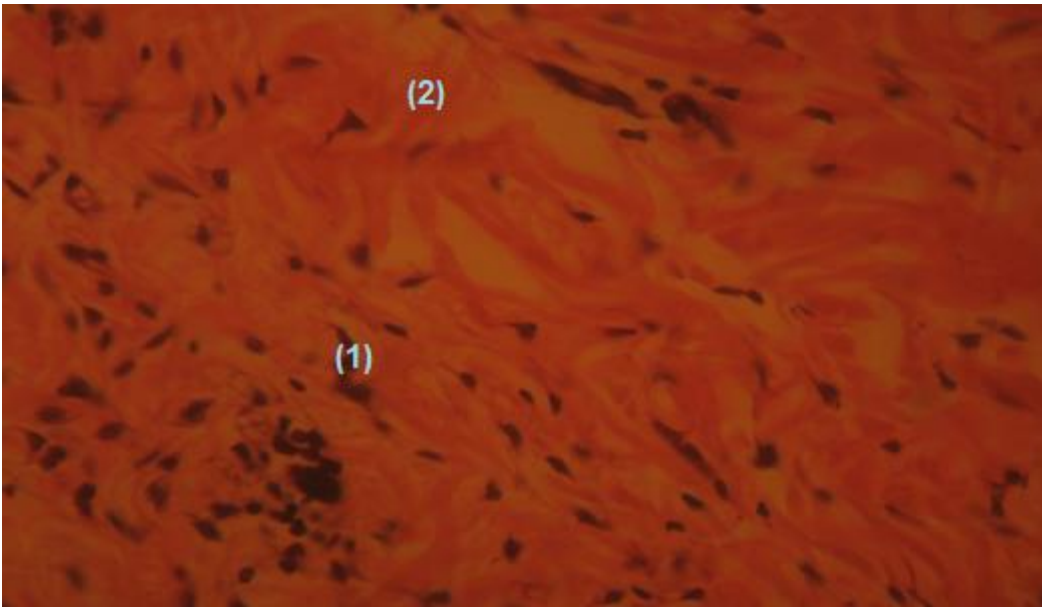
**Gráfica 2.** Ceruloplasmina sérica en mg/dL de ratones CD1. Los valores son la media ± el error estándar. P= 0.790 vaselina vs extracto; P= 0.028 vaselina vs Madecassol; P= 0.096 extracto vs Madecassol.

## Cortes Histológicos

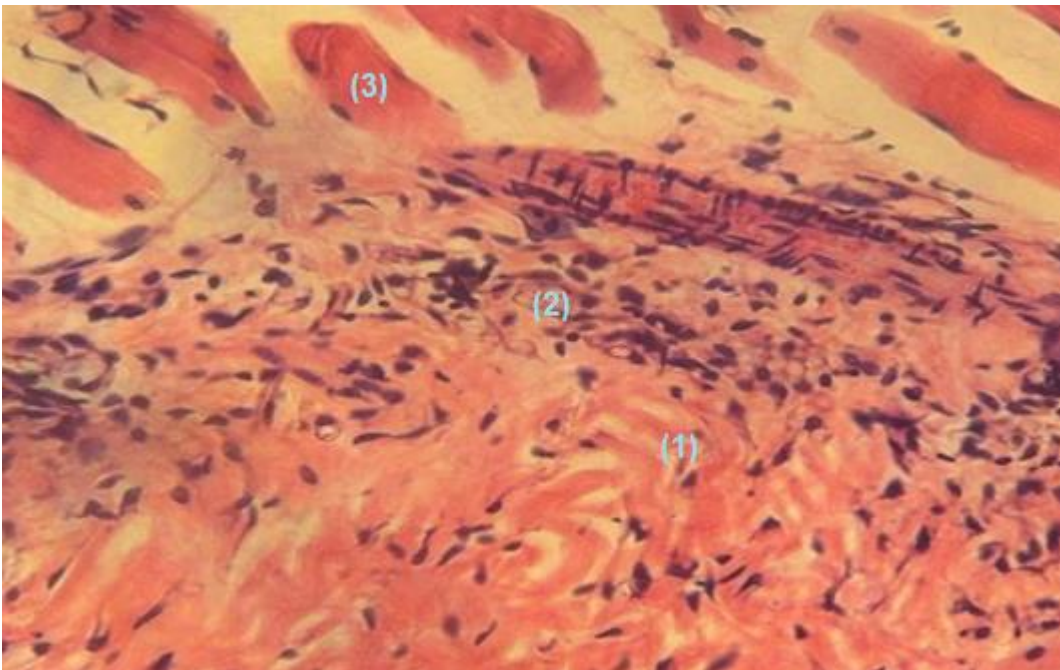
Para evaluar la cicatrización de las heridas se realizaron cortes histológicos para determinar la presencia de colágeno. Los resultados obtenidos de los cortes de los ratones tratados con *Ipomoea murucoides* después de 10 días de tratamiento muestran un abundante infiltrado leucocitario (**figura X.II**) y solo en uno de los cortes se observan escasas fibras de colágeno (**figura X.II y X.III**), obteniendo un resultado similar al control negativo (**figura X.V**).



**Figura X.II.** Corte histológico de ratón CD1 tratado con extracto acuoso al 2% de *Ipomoea murucoides* a 40X, se observa abundante infiltrado leucocitario sin la presencia de colágeno.

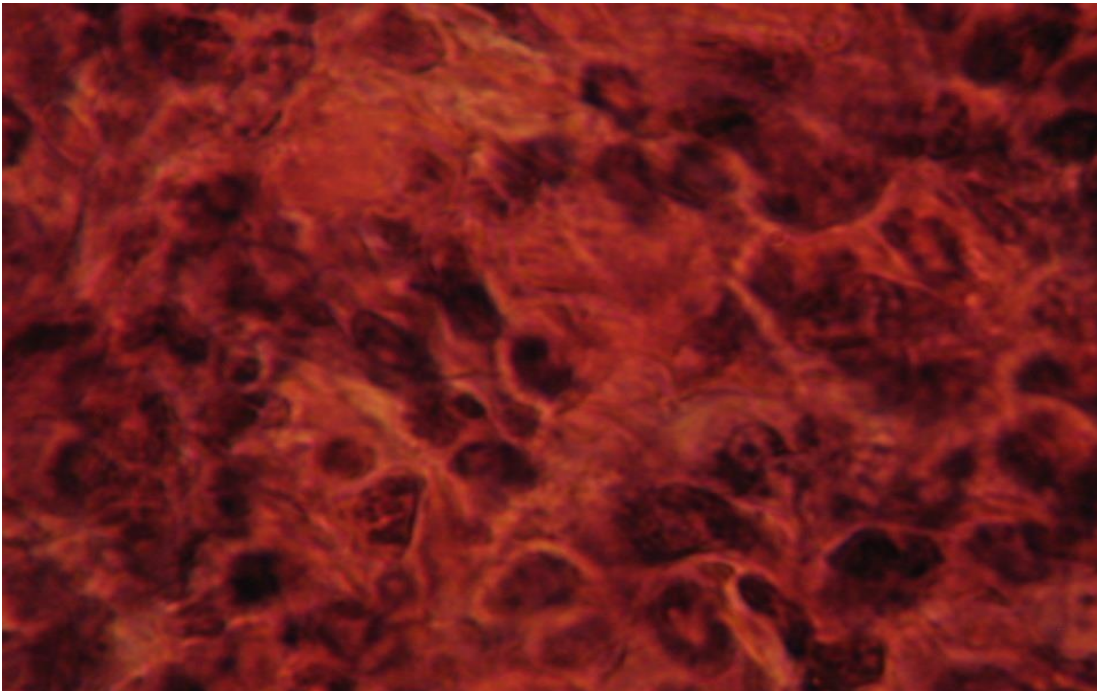


**Figura X.III** Corte histológico de ratón CD1 tratado con extracto acuoso al 2% de *Ipomoea murucoides* a 100X, se observa infiltrado leucocitario (1) y escasas fibras de colágena (2).



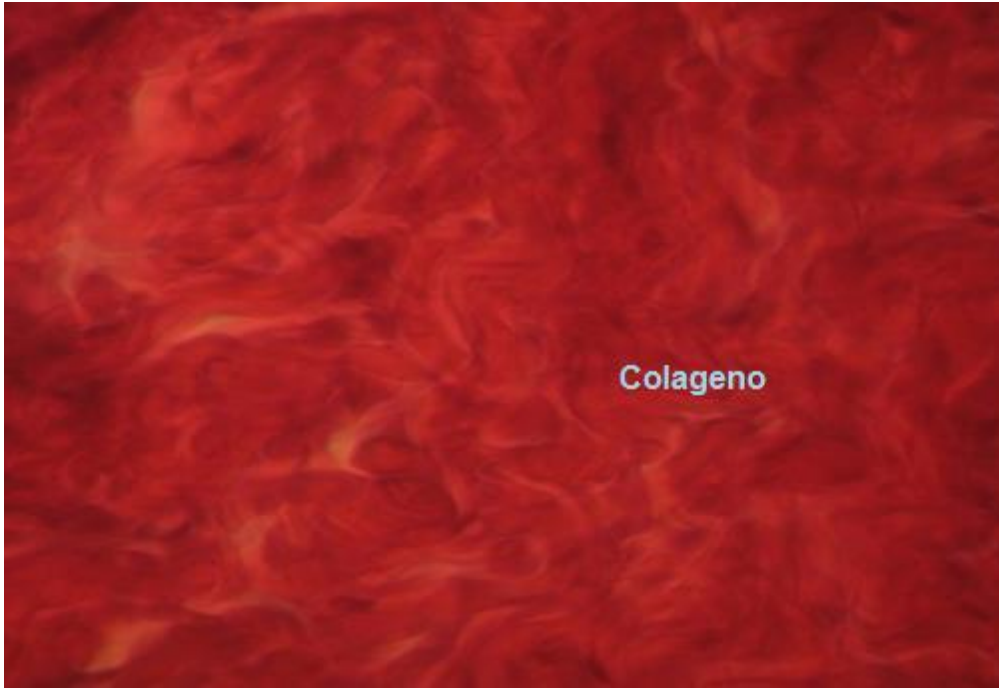
**Figura X.IV.** Corte histológico de ratón CD1 tratado con extracto acuoso al 2% de *Ipomoea murucoides* a 100X, se observa infiltrado leucocitario (2), escasas fibras de colágena (1) y musculo (3).

Con la finalidad de comparar contra un control negativo el extracto acuoso de *Ipomoea murucoides* se utilizó vaselina, en los cortes histológicos de las heridas de los ratones tratados con vaselina por 10 días se observa un abundante infiltrado leucocitario y nula presencia de colágeno se esperaba que el extracto de *Ipomoea murucoides* se comportara diferente de este, lo cual no fue por lo que la planta de estudio se comportó igual que la vaselina.

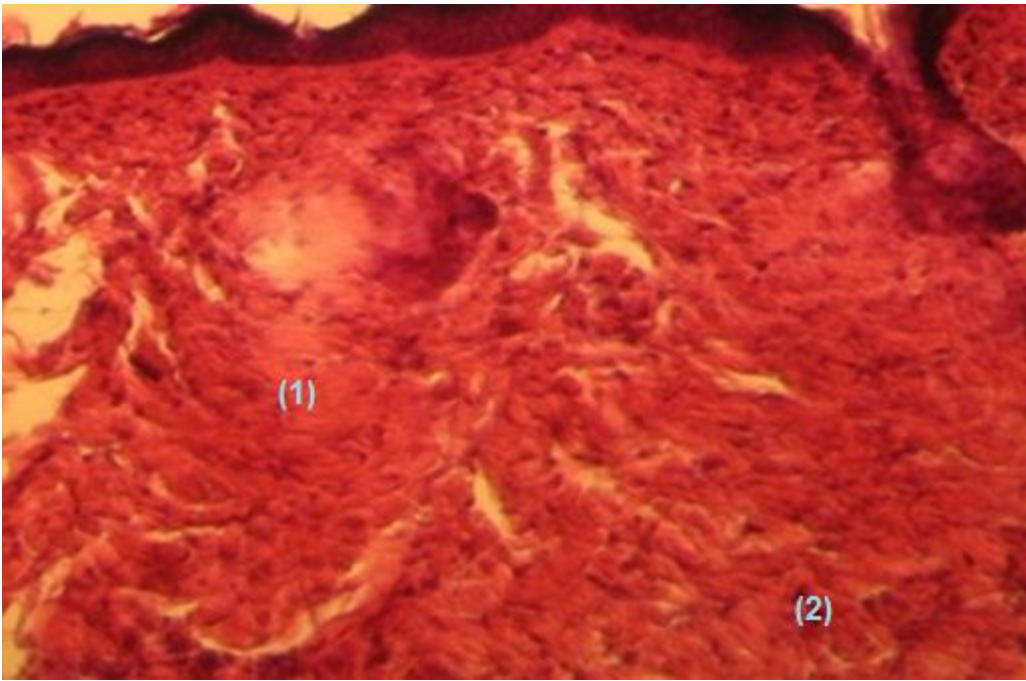


**Figura X.V.** Corte histológico de ratón CD1 tratado con vaselina (control negativo) a 100X, se observa abundante infiltrado leucocitario, no se observan fibras de colágeno.

El Madecassol fue el control positivo por sus propiedades cicatrizantes, *Ipomoea murucoides* se comparó contra este, en los cortes histológicos de las heridas después de 10 días de tratamiento con Madecassol se observa escaso infiltrado leucocitario y abundantes fibras de colágeno debido a la capacidad que tiene para favorecer la cicatrización (**figura X.VI** y **X.VII**).



**Figura X.VI.** Corte histológico de ratón tratado con Madecassol (control positivo) a 100X, se observa la zona de cicatrización con abundantes fibras de colágena, con poco infiltrado de leucocitos.



**Figura X.VII.** Corte histológico de ratón tratado con Madecassol (control positivo) a 10X, se observa escaso infiltrado leucocitario (2) y tejido en reparación, con bordes de cicatrización definidos (1).

La determinación de nitritos se realizó con el fluido biológico que se extrajo de los ratones que estuvieron en tratamiento 10 días con el extracto de *Ipomoea murucoides*, vaselina y Madecassol, realizando una curva de calibración con un estándar e interpolando los valores encontrados, para determinar nitritos como radical libre, los resultados muestran que los tres grupos se comportaron igual (**cuadro X.III.**).

**Cuadro X.III.** Concentración de nitritos séricos en los tres grupos de tratamiento.

<b>Parámetro</b>	<b>Vaselina (-) n=6</b>	<b>Madecassol (+) n=6</b>	<b>Extracto acuoso de <i>Ipomoea murucoides</i> n=6</b>
<b>Concentración de nitritos</b>	33.33+/-27.38	15.38+/-14.18	26.92+/-19.61

Prueba ANOVA de un factor, con comparaciones múltiples por la prueba de Tukey con 95% de confianza. El valor de p no es significativo para los tres grupos.



Con la finalidad de determinar la toxicidad del extracto acuoso de *Ipomoea murucoides* se administraron dosis repetidas a diferentes concentraciones y un grupo con solución salina (control negativo) después de 11 días de administrar el extracto se sacrificaron obteniendo los órganos (corazón, hígado, riñón y vaso), los resultados muestran el índice de los pesos de los órganos de los ratones obtenido entre el peso del órgano y peso del ratón multiplicado por 100, no encontrando diferencias entre las diferentes dosis y la solución salina (cuadro X.IV).

**Cuadro X.IV.** Índice de los órganos por dosis administrada.

Órgano	Solución	Media
<b>Corazón</b>	salina	0.42+/-0.24
	25 mg	0.37+/-0.05
	50 mg	0.36+/-0.06
	100 mg	0.30+/-0.05
<b>Hígado</b>	salina	5.30+/-0.33
	25 mg	5.48+/-0.81
	50 mg	6.09+/-0.51
	100 mg	5.31+/-0.59
<b>Riñón</b>	salina	1.26+/-0.073
	25 mg	0.93+/-0.13
	50 mg	0.94+/-0.05
	100 mg	0.85+/-0.05
<b>Vaso</b>	salina	0.33+/-0.07
	25 mg	0.40+/-0.07
	50 mg	0.50+/-0.06
	100 mg	.0.52+/-0.40

Prueba ANOVA de un factor, con comparaciones múltiples por la prueba de Tukey con 95% de confianza. El valor de p no es significativo.

## 11. Análisis de Resultados

En las plantas se encuentran numerosos principios activos, de los cuales uno de ellos determinará la importancia de la especie para alguna aplicación, desde las más primitivas civilizaciones, el hombre ha ido perfeccionando el cultivo de las plantas para su alimentación; y al mismo tiempo ha buscado en ellas sus propiedades medicinales, conocimiento que se transmite de generación en generación

Para facilitar el estudio y comprensión del proceso de reparación de las heridas se puede dividir en fases, las cuales ocurren de manera secuencial pero se superponen en el tiempo: hemostasia, inflamatoria, proliferativa o de granulación, de epitelización y de remodelación.

Con el tratamiento se esperaba que con el paso de los días el diámetro de las heridas disminuyera, ya que como bien se sabe una herida es la pérdida de la continuidad de la cubierta cutánea, el extracto de *Ipomoea murucoides* no unió los bordes de la herida igual o mejor que el Madecassol, por las propiedades que se reportan en la literatura de ser una planta que se utiliza como cicatrizante y antiinflamatorio el resultado no fue el esperado (**cuadro X.I**). Todas las heridas tienden a evolucionar y por lo tanto a un cierre por lo que el diámetro de las heridas disminuyó en los tres grupos de tratamiento.

Los ratones fueron sacrificados a los 11 días de tratamiento en este momento el proceso de cicatrización se encuentra en una etapa en donde se hace presente el colágeno su síntesis inicia horas después del daño pero se torna significativa hasta 1 semana aproximadamente después, por lo que en los cortes histológicos que se realizaron de las heridas el objetivo era observar fibras de colágeno bien definidas y en abundancia, tanto en el grupo tratado con *Ipomoea murucoides* para demostrar que el extracto es cicatrizante, como en el grupo tratado con Madecassol.

Del grupo tratado con *Ipomoea murucoides* las fibras de colágeno se observaron en un solo corte de todos los analizados y escasamente (**figura X.III y X.IV**), a comparación de que en todos los cortes del grupo tratado con Madecassol (**figura X.VI, X.VII**) se observaron fibras de colágeno bien definidas y en abundancia, lo que demuestra que la herida en ambos grupos seguía el proceso de cicatrización pero en el control positivo fue marcado este proceso diferenciándose de los demás grupos, no así el grupo tratado con el extracto de *Ipomoea murucoides* que si bien se encontró escasa presencia de colágeno también se observó abundante infiltrado leucocitario (**figura X.II**). Si bien es cierto que el infiltrado leucocitario tiene como misión principal la fagocitosis ya que es un mecanismo que impide la infección de la herida una vez que este infiltrado desaparece la presencia de colágeno es más abundante. El colágeno es el que incrementa la fuerza de la herida. Antes del depósito de colágeno, lo que sostiene la herida cerrada es el coágulo de fibrina-fibronectina que no da mucha resistencia al traumatismo.

La ceruloplasmina es una proteína que se eleva en procesos inflamatorios al término de este proceso su concentración disminuye, en esta evaluación se esperaba que el grupo tratado con *Ipomoea murucoides* la concentración de esta proteína fuera la misma que la del grupo tratado con Madecassol, por las propiedades reportadas como antiinflamatorio, el resultado muestra (**Cuadro X.II**) que la concentración de ceruloplasmina es mayor en el grupo tratado con el extracto de la planta en comparación con el grupo tratado con Madecassol, en la gráfica 2 se observa como el grupo tratado con el extracto no tuvo un comportamiento diferente al control negativo y diferente al control positivo; tomando en cuenta que cuando cesa el proceso inflamatorio inicia la reparación de los tejidos es probable que a esto se deba que no se encontrara la presencia de colágeno en abundancia y sí la presencia de infiltrado leucocitario.

En la cuantificación de nitritos como marcador de radicales libres no se obtuvieron resultados (**Cuadro X.III.**) estadísticamente significativos, por lo que ningún tratamiento es un generador de radicales libres del nitrógeno.

En el ensayo de toxicidad en donde se analizaron cuatro órganos (vaso, hígado, riñón y corazón) con dosificación a diferentes concentraciones, muestra que no existe diferencia significativa (**cuadro X.IV**) entre los grupos administrados con el extracto y el grupo administrado con solución salina (control positivo) en ninguna de las dosis administradas, por lo que los órganos en cuestión no sufrieron alteración alguna, no se observó disminución de peso y alteración en el comportamiento de los animales. En cuanto a toxicidad en la literatura se reporta que el ganado vacuno sufre disminución de peso por el exceso en el consumo de esta planta, en este ensayo no se encontró algo más que profundice o amplíe este conocimiento.

## 12. Conclusiones

*Ipomoea murucoides* ha sido reportada como un cicatrizante utilizado en diversos estados de la República; por lo que al realizar una incisión en ratones CD1 suponemos mejorará notablemente la herida, y disminuirá el proceso inflamatorio debido a sus propiedades cicatrizantes y antiinflamatorias en la piel.

Los resultados obtenidos indican que el extracto acuoso de *Ipomoea murucoides* en crema al 2% no favorece el proceso de cicatrización en las escisiones realizadas en ratones CD1.

A nivel microscópico la presencia de infiltrado leucocitario indica un mal proceso de cicatrización y la escasa o nula presencia de colágeno en los cortes de las heridas tratadas con *Ipomoea murucoides*, nos sugieren que no tiene efecto cicatrizante sobre las escisiones realizadas, los diámetros de las heridas no disminuyeron de forma favorable y la presencia de ceruloplasmina sérica es mayor en el grupo tratado con el extracto que en el grupo testigo positivo, lo que indica que el extracto no tiene efecto sobre el proceso inflamatorio.

### 13. Perspectivas

- Realizar estudios sobre cada parte de la planta: flor, tallo, corteza y hojas.
- Realizar estudios aumentando la concentración del extracto.
- Realizar una extracción etanólica.

Los estudios se deben realizar para determinar que parte de la planta tiene efecto terapéutico ya que en la literatura no se encuentra reportado. La concentración del extracto debe aumentar para ver si a mayor concentración existe un efecto terapéutico o si con una extracción etanólica o con algún otro solvente se pueden extraer mejor los compuestos de la planta.

## 14. Referencias

1. Raspall G. Cirugía oral e implantología. 2ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2007. Pp.8,9.
2. Rojas M William. Inmunología. 13ª ed. Colombia: Corporación para las investigaciones biológicas; 2004. Pp 79-89
3. Teller P, White TK. Fisiología de la cicatrización de la herida de la lesión a la maduración. SurgClin N Am 89 (2009) 599-610.
4. Ramírez HGA. Fisiología de la cicatrización cutánea. RFS. 2010 [consultado el 8 de abril 2013]; 2(2): 69-78. Disponible en <http://www.revistarfs.com/articulos/9---fisiologia-de-la-cica.pdf>
5. Cameron MH. Agentes físicos en rehabilitación. 3ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009. Pp. 25-41.  
[http://books.google.com.mx/books?id=SzOSeZqPiDMC&printsec=frontcover&dq=agentes+fisicos+e+n+rehabilitacion+michelle+cameron&hl=es&sa=X&ei=Q1aRUqSpLoj\\_2wWrk4CAAw&ved=0CC8Q6AEwA#v=onepage&q=agentes%20fisicos%20en%20rehabilitacion%20michelle%20cameron&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=SzOSeZqPiDMC&printsec=frontcover&dq=agentes+fisicos+e+n+rehabilitacion+michelle+cameron&hl=es&sa=X&ei=Q1aRUqSpLoj_2wWrk4CAAw&ved=0CC8Q6AEwA#v=onepage&q=agentes%20fisicos%20en%20rehabilitacion%20michelle%20cameron&f=false)
6. González JR. y cols. Cirugía general en el anciano. Revista Chilena de Cirugía. [revista en internet] 2001 [Consultado el 12 de marzo 2013]; 53 (1): 13-16. Disponible en [http://books.google.com.mx/books?id=4l3qiZgJnWAC&pg=PA14&dq=cicatrizacion&hl=es419&sa=X&ei=TmQ\\_UafyA5TW2wW90IGoAg&ved=0CFkQ6AEwCDgK#v=onepage&q=cicatrizacion&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=4l3qiZgJnWAC&pg=PA14&dq=cicatrizacion&hl=es419&sa=X&ei=TmQ_UafyA5TW2wW90IGoAg&ved=0CFkQ6AEwCDgK#v=onepage&q=cicatrizacion&f=false)
7. Alexander T, Trott.MD. Heridas y corte. Tratamiento y sutura de urgencia. 3ra ed. Elsevier. pp. 19-31.  
<http://books.google.com.mx/books?id=6poBw9ttcoQC&printsec=frontcover&dq=heridas+y+cortes>

[tes&f=false](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942208005943&hl=es&sa=X&ei=Uv5hUrytGoeB2gXdl4DoBw&ved=OCCOQ6AEwAA#v=onepage&q=heridas%20y%20cor<br/>tes&f=false)

8. Alonso PD. Atlas de dermatología del pie. Madrid: Médica panamericana: 2007. Pp. 207-211
9. Hernández CA, Toro AM. Enfoque y manejo de cicatrices hipertróficas y queloides. *Asoc Colomb Dermatol.* 2011; 19: 218-228.
10. Schlaepfer L, Mendoza-Espinoza JA. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Revista Mexicana De Ciencias Farmacéuticas.* 2010; 41(4):18-20.
11. Waizel-Bucay J. Plantas y compuestos importantes para la medicina: los sauces, los salicilatos y la aspirina. *Revista de Fitoterapia* 2011; 11(1):61-75.  
[http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF%2011.1\\_Salicilats.pdf](http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF%2011.1_Salicilats.pdf)
12. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional.  
URL:<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Cazahuate&id=7139>
13. Ipomoea murucoides en la UAQ. URL:  
<http://www.uaq.mx/FCN/naturaleza/lpomea%20murucroides.php>.
14. Cherigo L, Pereda-Miranda RL. Bacterial resistance modifying tetrasaccharide agents from Ipomoea murucoides. *Phytochemistry.* 2009 consultado el 14 de marzo 2013]; 79(2): 222-227. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942208005943>



15. Alonso JM, Centella Asiática: una planta con historia e interesantes propiedades. *Ámbito Farmacéutico Fitoterapia*. 2009[Consultado el 20 de septiembre 2013]; 28(5): 98-104. Disponible en [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet? f=10&pidet\\_articulo=13139754&pidet\\_usuario=0&pcontactid=&pidet\\_revista=4&ty=114&accion=L&origen=zonadelectura&web=http://zl.elsevier.es&lan=es&fichero=4v28n05a13139754pdf001.pdf](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet? f=10&pidet_articulo=13139754&pidet_usuario=0&pcontactid=&pidet_revista=4&ty=114&accion=L&origen=zonadelectura&web=http://zl.elsevier.es&lan=es&fichero=4v28n05a13139754pdf001.pdf)
16. Hernandez MR, Gally JM. *Plantas medicinales: uso y dosificación de las 184 plantas más usadas en América Latina*. México: Árbol Editorial; 1981. pp. 148.
17. Prakash NB, Solanki R. Role of medicinal plants in wound healing. *Research Journal of Medicinal Plant*. 2011; 5(4): 392-405.
18. Quezada DA. *Introducción al manejo de animales de laboratorio: roedores y pequeñas especies*. México: Universidad Autónoma de Yucatan.; 1997. pp. 65-66
19. Mangas AS. *Producción de saponinas triterpénicas en cultivos in vitro de Centella asiática*. Barcelona: Universidad de Barcelona; 2009. pp. 9-45. [http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2622/02.SMA\\_INTRODUCCION.pdf;jsessionid=B8F9D579C8810E87FB401561B028ED06.tdx2?sequence=2](http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2622/02.SMA_INTRODUCCION.pdf;jsessionid=B8F9D579C8810E87FB401561B028ED06.tdx2?sequence=2)
20. Rodriguez FL, Reyes EJ, Burchiel SW, Herrera RD, Torres E. Risk and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2008; 227: 125-135.
21. Ghosh S, Amalesh S, Nirup B, Sukbed B, Dedprasad C. Evaluation of the wound healing activity of methanol extract of *Pedilanthus thymaloides*. Poit leaf and its isolated active constituents in topical formulation. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012 [consultado el 15 de febrero 2013]; 142: 714-722.

22. Ruspesh T, Nikita J, Raghvendra P, Sardul SS. Practices in Wound Healing Studies of Plants. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2011[consultado el 3 de marzo 2013]; 2011(ID 438056): 1-15. Disponible en <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/438056/>
23. Tai-Ping F, Jun-Ching Y, Kar WL, Patrick YKY, Ricky NS, Wong. Angiogenesis: from plants to blood vessels. TRENDS in Pharmacological Sciences. 2006; 27(6): 297-307.
24. Caballo MA, Cortada CM, Gadano AB. Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. Theoria. 2004; 14(2): 95-108.
25. Castrillón RLE, Palma RA, Padilla DMC. Interferencia de las biopelículas en el proceso de curación de las heridas. Dermatología Rev Mex. 2011; 55(3): 127-139.
26. Prakash NB, Solanki R. Role of medicinal plants in wound healing. Research Journal of Medicinal Plant. 2011; 5(4): 392-405.
27. Martínez LJF. Prevención y tratamiento de úlceras y escaras. [Libro electrónico] España: Vértice; 2008. [consultado el 12 de marzo 2013]. Disponible en [http://books.google.com.mx/books?id=PVNwRMownLAC&pg=PA12&dq=proceso+de+cicatrizacion+de+la+piel&hl=en&sa=X&ei=YHU\\_UYrCJ8avygHm64Bw&ved=0CCcQ6AEwAA](http://books.google.com.mx/books?id=PVNwRMownLAC&pg=PA12&dq=proceso+de+cicatrizacion+de+la+piel&hl=en&sa=X&ei=YHU_UYrCJ8avygHm64Bw&ved=0CCcQ6AEwAA)
28. Meira M, Pereira-da Silva E, Jorge M, Juceni PD, David. Review of the genus Ipomoea: traditional uses, chemistry and biological activities. Rev. bras. Farmacogn. 2012 [consultado el 25 de febrero 2013]; 22(3). Disponible en [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2012005000025&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2012005000025&script=sci_arttext)
29. Mancebo A, Scull I, González Y, Arteaga ME, González BO, Fuentes D, Hernández O, Correa, M. Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto

acuoso de *Morinda citrifolia* en ratas Sprague Dawley. Revista de Toxicología. 2002 19: 73-78 <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91919204>

30. Silva ER, Bermudez GA, Villasmil JJ, Bracho MB, Villamizar M, Chacón JL. Valores de referencia de nitritos como medida de óxido nítrico en adolescentes normotensos. Revista Latinoamericana de Hipertensión. 2008; 3(7): 230-236